



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004696-22-9

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-004696-22-9 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Analytical Technologies SA. solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado: Nombre descriptivo: Anticuerpos para inmunoclasificación de neoplasias de origen neuroepitelial.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: Anticuerpos para inmunoclasificación de neoplasias de origen neuroepitelial, de acuerdo con lo solicitado por Analytical Technologies SA. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-137264657-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 2357-16 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Anticuerpos para inmunoclasificación de neoplasias de origen neuroepitelial.

Marca comercial: Dako, Agilent.

Indicación/es de uso:

Los anticuerpos están indicados para su uso en inmunohistoquímica, para la identificación y clasificación de tumores de origen neuroepitelial incluyendo:

- adenocarcinoma de próstata,
- adenocarcinomas colorrectales,
- adenocarcinomas endometriales
- adenocarcinomas escamosos pulmonares
- adenocarcinomas gástricos,
- angiomiolipomas
- cáncer ovárico mucinoso primario
- carcinoma escamoso de cuello uterino
- carcinoma esofágico
- carcinoma pancreático
- carcinomas colangiocelulares

- carcinomas corticosuprarrenales
- carcinomas de células transicionales de la vejiga urinaria
- carcinomas de ovario serosos
- carcinomas mamarios,
- carcinomas renales de células cromóforas
- carcinomas tiroideos
- condroblastoma,
- enfermedades hepáticas neoplásicas,
- hemangioendoteliomas epitelioides
- histiocitosis de Langerhans,
- leucemia de células pilosas
- linfomas esplénicos con linfocitos vellosos
- melanoma maligno,
- mesotelioma epitelial maligno
- metaplasia intestinal en el esófago de Barret
- metaplasia intestinaldenocarcinoma de colon con metástasis ovárica
- neoplasias de origen astrocítico/glial
- neuroblastomas,
- retinoblastomas
- schwannoma
- seminomas
- tumores de células germinales
- tumores del saco vitelino,
- tumores neuroendocrinos con segregación de gastrina

La clasificación diferencial se complementa con los resultados de un panel de anticuerpos. La interpretación de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse mediante estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas. Estos anticuerpos están indicados para su uso después de realizar el diagnóstico primario del tumor mediante histopatología convencional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Modelos:

1. A0008 Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein
2. A0231 Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin
3. A0251 Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin
4. A0485 Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erbB-2 Oncoprotein
5. A0568 Polyclonal Rabbit Anti-Human Gastrin
6. A0576 Polyclonal Rabbit Anti-Human Calcitonin
7. IR500 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein Ready-to-Use ([Link](#))
8. IR504 FLEX Polyclonal Rabbit Anti- S100 Ready-to-Use ([Link](#))
9. IR508 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin Ready-to-Use ([Link](#))
10. IR515 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Calcitonin Ready-to-Use ([Link](#))
11. IR519 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Gastrin Ready-to-Use ([Link](#))
12. IR524 FLEX Polyclonal Rabbit Anti- Glial Fibrillary Acidic Protein Ready-to-Use ([Link](#))
13. IR607 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Neurofilament Protein Clone 2F11 Ready-to-Use ([Link](#))
14. IR615 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19 Clone RCK108 Ready-to-Use ([Link](#))

15. IR616 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein Clone DO-7 Ready-to-Use ([Link](#))
16. IR618 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 18 Clone DC 10 Ready-to-Use ([Link](#))
17. IR619 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7 Clone OV-TL 12/30 Ready-to-Use ([Link](#))
18. IR620 FLEX Monoclonal Mouse Anti- Cytokeratin 17 Clone E3 Ready-to-Use ([Link](#))
19. IR622 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen Clone II-7 Ready-to-Use ([Link](#))
20. IR624 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Hepatocyte Clone OCH1E5 Ready-to-Use ([Link](#))
21. IR626 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1 Ready-to-Use ([Link](#))
22. IR627 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Calretinin Clone DAK-Calret 1 Ready-to-Use ([Link](#))
23. IR629 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen Clone E29 Ready-to-Use ([Link](#))
24. IR633 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A Clone A103 Ready-to-Use ([Link](#))
25. IR637 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4 Ready-to-Use ([Link](#))
26. IR647 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD57 Clone TB01 Ready-to-Use ([Link](#))
27. IR658 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human MUC2 Clone CCP58 Ready-to-Use ([Link](#))
28. IR659 FLEX Monoclonal Rabbit Anti-Human ERG Clone EP111 Ready-to-Use ([Link](#))
29. IR660 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin Clone DAK-SYNAP Ready-to-Use ([Link](#))
30. IR661 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human MUC5AC Clone CLH2 Ready-to-Use ([Link](#))
31. IR662 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p63 Protein Clone DAK-p63 Ready-to-Use ([Link](#))
32. IR701 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CA 125 Clone M11 Ready-to-Use ([Link](#))
33. IR777 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20 Clone Ks20.8 Ready-to-Use ([Link](#))
34. IR779 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Placental Alkaline Phosphatase Clone 8A9 Ready-to-Use ([Link](#))
35. IR780 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 5/6 Clone D5/16 B4 Ready-to-Use ([Link](#))
36. M0613 Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen Clone E29
37. M0758 Monoclonal Mouse Anti-Human Serotonin Clone 5HT-H209
38. M0762 Monoclonal Mouse Anti-Human Neurofilament Protein Clone 2F11
39. M0792 Monoclonal Mouse Anti-Human Prostatic Acid Phosphatase Clone PASE/4LJ
40. M0804 Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4
41. M0821 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin Clone MNF116
42. M0825 Monoclonal Mouse Anti-Human CD14 Clone TÜK4
43. M0869 Monoclonal Mouse Anti-Human Chromogranin A Clone DAK-A3
44. M0873 Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase Clone BBS/NC/VI-H14
45. M0879 Monoclonal Mouse Anti- Proliferating Cell Nuclear Antigen Clone PC10
46. M0888 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 19 Clone RCK108
47. M7001 Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein Clone DO-7
48. M7010 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 18 Clone DC 10
49. M7018 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 7 Clone OV-TL 12/30
50. M7019 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 20 Clone Ks20.8
51. M7046 Monoclonal Mouse Anti- Cytoeratin 17 Clone E3
52. M7072 Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen Clone II-7
53. M7158 Monoclonal Mouse Anti-Human Hepatocyte Clone OCH1E
54. M7196 Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A Clone A103
55. M7202 Monoclonal Mouse Anti-Human p21WAF1/Cip1 Clone SX118
56. M7237 Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 5/6 Clon D5/16 B4
57. M7240 Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1
58. M7257 Monoclonal Mouse Anti-Human Thyroid Peroxidase Clone MoAb47
59. M7313 Monoclonal Mouse Anti-Human MUC2 Clone CCP58

60. M7315 Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin Clone DAK-SYNAP
61. M7317 Monoclonal Mouse Anti-Human p63 Protein Clone DAK-p63
62. SK001 Hercep test for automated Link platforms
63. M3626 Monoclonal Mouse Anti-Human IMP3, Clone 69.1
64. IR094 FLEX Monoclonal Rabbit Anti-Human Cytokeratin 8/18, Clone EP17/EP30, Ready-to-Use (Link)
65. IR612 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase Clone BBS/NC/VI-H14 Ready-to-Use (Link)
66. GA062 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD15 Clon Carb-3 Ready-to-Use (Dako Omnis)
67. GA074 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Mammaglobin Clon 304-1A5 Ready-to-Use (Dako Omnis)
68. GA500 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein Ready-to-Use (Dako Omnis)
69. GA504 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-S100 Ready-to-Use (Dako Omnis)
70. GA505 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Antitrypsin Ready-to-Use (Dako Omnis)
71. GA508 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin Ready-to-Use (Dako Omnis)
72. GA509 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin (Dako Omnis)
73. GA515 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Calcitonin Ready-to-Use (Dako Omnis)
74. GA524 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein Ready-to-Use (Dako Omnis)
75. GA519 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Gastrin Ready-to-Use (Dako Omnis)
76. GA607 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Neurofilament Protein Clon 2F11 Ready-to-Use (Dako Omnis)
77. GA615 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19 Clone RCK108 Ready-to-Use (Dako Omnis)
78. GA618 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 18 Clone DC 10 Ready-to-Use (Dako Omnis)
79. GA619 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7 Clone OV-TL 12/30 Ready-to-Use (Dako Omnis)
80. GA616 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein Clone DO-7 Ready-to-Use (Dako Omnis)
81. GA622 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen Clone II-7 Ready-to-Use (Dako Omnis)
82. GA624 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Hepatocyte Clon OCH1E5 Ready-to-Use (Dako Omnis)
83. GA626 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1 Ready-to-Use (Dako Omnis)
84. GA629 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen Clone E29 Ready-to-Use (Dako Omnis)
85. GA637 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4 Ready-to-Use (Dako Omnis)
86. GA659 FLEX Monoclonal Rabbit Anti-Human ERG Clon EP111 Ready-to-Use (Dako Omnis)
87. GA660 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin Clone DAK-SYNAP Ready-to-Use (Dako Omnis)
88. GA662 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p63 Protein Clone DAK-p63 Ready-to-Use (Dako Omnis)
89. GA701 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CA 125 Clone M11 Ready-to-Use (Dako Omnis)
90. GA777 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20 Clone Ks20.8 Ready-to-Use (Dako Omnis)
91. GA780 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 5/6 Clon D5/16 B4 Ready-to-Use (Dako Omnis)
92. K5731 HER2 IQFISH pharmDx
93. GM333 HER IQFISH pharmDx (Dako Omnis)

Forma de presentación: 1. 0.2 mL

2. 2 mL

3. 2 mL

4. 0.2 mL

5. 1 mL
6. 1 mL
7. 12 ml para 40-60 determinaciones
8. 12 ml para 40-60 determinaciones
9. 12 ml para 40-60 determinaciones
10. 12 ml para 40-60 determinaciones
11. 12 ml para 40-60 determinaciones
12. 12 ml para 40-60 determinaciones
13. 12 ml para 40-60 determinaciones
14. 12 ml para 40-60 determinaciones
15. 12 ml para 40-60 determinaciones
16. 12 ml para 40-60 determinaciones
17. 12 ml para 40-60 determinaciones
18. 12 ml para 40-60 determinaciones
19. 12 ml para 40-60 determinaciones
20. 12 ml para 40-60 determinaciones
21. 12 ml para 40-60 determinaciones
22. 12 ml para 40-60 determinaciones
23. 12 ml para 40-60 determinaciones
24. 12 ml para 40-60 determinaciones
25. 12 ml para 40-60 determinaciones
26. 12 ml para 40-60 determinaciones
27. 12 ml para 40-60 determinaciones
28. 12 ml para 40-60 determinaciones
29. 12 ml para 40-60 determinaciones
30. 12 ml para 40-60 determinaciones
31. 12 ml para 40-60 determinaciones
32. 12 ml para 40-60 determinaciones
33. 12 ml para 40-60 determinaciones
34. 12 ml para 40-60 determinaciones
35. 12 ml para 40-60 determinaciones
36. 1 y 0.2 mL
37. 1 mL
38. 0.2 mL
39. 1 mL
40. 1 y 0.2 mL
41. 1 mL
42. 1 mL
43. 1 y 0.2 mL
44. 1 y 0.2 mL
45. 1 mL
46. 1 mL
47. 1 y 0.2 mL
48. 0.2 mL
49. 1 y 0.2 mL
50. 1 y 0.2 mL

51. 1 mL
52. 1 y 0.2 mL
53. 1 mL
54. 1 y 0.2 mL
55. 0.2 mL
56. 1 y 0.2 mL
57. 1 y 0.2 mL
58. 0.2 mL
59. 1 y 0.2 mL
60. 1 y 0.2 mL
61. 1 y 0.2 mL
62. Kit para 50 determinaciones.
63. 0.2 mL
64. 12 ml para 40-60 determinaciones
65. 12 ml para 40-60 determinaciones
66. 12 mL.
67. 12 mL.
68. 12 mL.
69. 12 mL.
70. 12 mL.
71. 12 mL.
72. 12 mL.
73. 12 mL.
74. 12 mL.
75. 12 mL.
76. 12 mL.
77. 12 mL.
78. 12 mL.
79. 12 mL.
80. 12 mL.
81. 12 mL.
82. 12 mL.
83. 12 mL.
84. 12 mL.
85. 12 mL.
86. 12 mL.
87. 12 mL.
88. 12 mL.
89. 12 mL.
90. 12 mL.
91. 12 mL.
92. Kit para 20 determinaciones
93. 1.6 mL.

Período de vida útil y condición de conservación: A0008, A0231, A0251, A0568 y A0576: 72 meses, conservado entre 2-8 °C.

A0485, M0613, M0758, M0762, M0792, M0804, M0821, M0825, M0869, M0873, M0879, M0888, M7001, M7010, M7018, M7019, M7046, M7072, M7158, M7196, M7202, M7237, M7240 y M7257: 36 meses, conservado entre 2-8 °C.

IR500, IR504, IR508, IR515, IR519, IR524, IR607, IR615, IR616, IR618, IR619, IR620, IR622, IR624, IR626, IR627, IR629, IR633, IR637, IR647, IR658, IR659, IR660, IR661, IR662, IR701, IR777, IR779, IR780, IR612, GA062, GA505, GA508, GA509, GA515, GA524, GA519, GA617, GA615, GA618, GA619, GA616, GA622, GA624, GA626, GA629, GA659, GA660, GA662, GA701, GA777, GA780, M7313, M7315 y M7317: 24 meses, conservado entre 2-8 °C.

IR094, GA500, K5731 y GM333: 18 meses, conservado entre 2-8 °C.

GA074 y GA637: 12 meses, conservado entre 2-8 °C.

SK001: 9 meses, conservado entre 2-8 °C.

M3626: 6 meses, conservado entre 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

1- Fabricante legal: AGILENT TECHNOLOGIES DENMARK APS

2-Sitio de fabricación: AGILENT TECHNOLOGIES SINGAPORE (INTERNATIONAL) PTE. LTD

Sólo para modelos GA062, IR094 y M3626

3-Fabricante legal y sitio de fabricación: AGILENT TECHNOLOGIES, INC.

Lugar de elaboración:

1-Produktionsvej 42, 2600 Glostrup, Dinamarca.

2-No 1 Yishun Avenue 7, 768923, Singapur.

3-5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, California, 95051, EEUU.

6392 Via Real, Carpinteria, California, 93013, Estados Unidos.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-004696-22-9

N° Identificadorio Trámite: 40647

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2022.12.29 15:03:58 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.12.29 15:04:09 -03:00

PROYECTO DE RÓTULOS

Rótulo Externo

Anticuerpos para inmunoclasificación de neoplasias de origen neuroepitelial

Modelos: [Referencia][Descripción]

Importado por:

ANALYTICAL TECHNOLOGIES SA

J. F. Kennedy 2840 Piso 10, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Director Técnico: **Bioq., Alida Lucía Álvarez. MN 6998.**

Fabricado por:

AGILENT TECHNOLOGIES DENMARK APS

Produktionsvej 42, 2600 Glostrup, Dinamarca.

AGILENT TECHNOLOGIES SINGAPORE (INTERNATIONAL) PTE. LTD

No 1 Yishun Avenue 7, 768923, Singapur.

Sólo para modelos GA062, GA074, IR094 y M3626:

AGILENT TECHNOLOGIES, INC.

5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, California, 95051, EEUU.

6392 Via Real, Carpinteria, California, 93013, Estados Unidos.

Marca: **Dako, Agilent.**



31/08/22



11347981C



20, 50, 40-60

Autorizado por la ANMAT - PM 2357-16

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS: VER INSTRUCCIONES DE USO.

Solamente para uso diagnóstico in-vitro

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos.

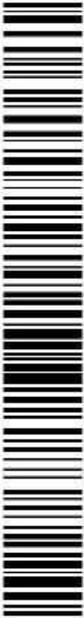
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Rótulo del fabricante

Ejemplo de rótulo para modelos A0008, A0231, A0251, A0485, A0568 y A0576

A000829-2 Secondary v2			 2020-07-21
Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein		REF A0008	 (01)05700572027799(17)200721(10)12345678
		LOT 12345678	
		0.2 mL	
		 2°C - 8°C	
	Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd. No. 1 Yishun Avenue 7 Singapore, 768923	 agilent.com/library/eifu +44 161 492 7050	
Manufactured in Denmark		IVD	
EC REP	Agilent Technologies Denmark ApS Produktionsvej 42 2600 Glostrup, Denmark		


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Ejemplo de rótulo para modelos IR500, IR504, IR508, IR515, IR519, IR524, IR607, IR615, IR616, IR618, IR619, IR620, IR622, IR624, IR626, IR627, IR629, IR633, IR637, IR647, IR658, IR659, IR660, IR661, IR662, IR701, IR777, IR779, IR780, IR094 y IR612,

IR50061-2 Secondary v2			 2020-07-21
FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein Ready-to-Use (Link)		 REF IR500	 (01)05700572029359(17)200721(10)12345678
		 LOT 12345678	
		 Σ 40-60	
		 2°C  8°C	
		 agilent.com/library/eifu +44 161 492 7050	
 IVD	 Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd. No. 1 Yishun Avenue 7 Singapore, 768923		
Manufactured in Denmark			
 EC REP	Agilent Technologies Denmark ApS Produktionsvej 42 2600 Glostrup, Denmark		


Bco. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Ejemplo de rótulo para M0613, M0758, M0762, M0792, M0804, M0821, M0825, M0869, M0873, M0879, M0888, M7001, M7010, M7018, M7019, M7046, M7072, M7158, M7196, M7202, M7237, M7240, M7257, M7313, M7315, M7317 y M3626.

M061301-2 Secondary v2

CE  2020-07-21

Monoclonal Mouse
Anti-Human
Epithelial Membrane
Antigen
Clone E29

REF M0613

LOT 12345678

1 mL

2°C  8°C

 Agilent Technologies Singapore
(International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923

 agilent.com/library/eifu
+44 161 492 7050

IVD

Manufactured in Denmark

EC REP Agilent Technologies Denmark ApS
Produktionsvej 42
2600 Glostrup, Denmark

 (01)05700572004592(17)200721(10)12345678


Biot. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Ejemplo de rótulo para modelo SK001

SK00121-2 Secondary v5

HercepTest™ for Automated Link Platforms

CE  2020-09-10

HercepTest™ PEROXIDASE-BLOCKING REAGENT	HercepTest™ DAB SUBSTRATE BUFFER
HercepTest™ RABBIT ANTI-HUMAN HER2 PROTEIN	HercepTest™ DAB CHROMOGEN
HercepTest™ VISUALIZATION REAGENT	HercepTest™ EPI TOPE RETRIEVAL SOLUTION (CONTAINING DETERGENT) (10x)
HercepTest™ NEGATIVE CONTROL REAGENT	HercepTest™ CONTROL SLIDES
	USER-FILLABLE REAGENT BOTTLE 12 mL CAPACITY

REF SK001

LOT 12345678

Σ 50

2°C  8°C

 agilent.com/library/eifu
+44 161 492 7050

IVD  Fragile,
handle with
care

 Store in the
dark



(01)05700572031390(17)200910(10)12345678

 Danger

 Agilent Technologies Singapore
(International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7, Singapore, 768923
Manufactured in Denmark

 Agilent Technologies Denmark ApS
Produktionsvej 42, 2600 Glostrup, Denmark


BIOQ. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Ejemplo de rótulo para modelos GA062, GA074, GA500, GA505, GA508, GA509, GA515, GA524, GA519, GA607, GA615, GA618, GA619, GA616, GA622, GA624, GA626, GA629, GA637, GA659, GA660, GA662, GA701, GA777 y GA780

GA07461-2 Secondary v3



2020-08-03

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Mammaglobin
Clone 304-1A5
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

REF GA074

LOT 12345678

12 mL

2°C  8°C



Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051
United States



agilent.com/library/eifu
+44 161 492 7050

IVD

Manufactured in the United States

EC REP

Agilent Technologies Denmark ApS
Produktionsvej 42
2600 Glostrup, Denmark



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Ejemplo de rótulo para modelo K5731

K573111-2 Secondary v2

HER2 IQFISH pharmDx™

CE

2020-09-10

REF K5731

LOT 12345678

Σ 20

-18°C

agilent.com/library/eifu
+44 161 492 7050

IVD

Keep away from sunlight

0105700572032458 173008101092345678

PRE-TREATMENT SOLUTION (20x)

PEPSIN

PEPSIN DILUENT (10x)

HER2/CEN-17 IQISH PROBE MIX

STRINGENT WASH BUFFER (20x)

FLUORESCENCE MOUNTING MEDIUM

WASH BUFFER (20x)

COVERSLIP SEALANT

Danger

Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7, Singapore, 768223
Manufactured in Denmark

Agilent Technologies Denmark ApS
Produktionsvej 42, 2600 Glostrup, Denmark


Biot. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Ejemplo de rótulo para modelo GM333

GM33311-2 Secondary v2

**HER2 IQFISH
pharmDx™
(Dako Omnis)**

CE

 2020-09-10

REF GM333

LOT 12345678

1.6 mL

 -18°C

 agilent.com/library/eifu
+44 161 492 7050

IVD  Keep away from sunlight

 Warning

 Agilent Technologies Singapore
(International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923

Manufactured in Denmark

EC REP Agilent Technologies Denmark ApS
Produktionsvej 42, 2600 Glostrup, Denmark

 (01)05700572035299(17)200910(10)12345678


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

MANUAL DE INSTRUCCIONES

1. Nombre comercial del Producto

Anticuerpos para inmunoclasificación de neoplasias de origen neuroepitelial

Modelos:

1. A0008 Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein
2. A0231 Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin
3. A0251 Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin
4. A0485 Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erbB-2 Oncoprotein
5. A0568 Polyclonal Rabbit Anti-Human Gastrin
6. A0576 Polyclonal Rabbit Anti-Human Calcitonin
7. IR500 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein Ready-to-Use ([Link](#))
8. IR504 FLEX Polyclonal Rabbit Anti- S100 Ready-to-Use ([Link](#))
9. IR508 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin Ready-to-Use ([Link](#))
10. IR515 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Calcitonin Ready-to-Use ([Link](#))
11. IR519 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Gastrin Ready-to-Use ([Link](#))
12. IR524 FLEX Polyclonal Rabbit Anti- Glial Fibrillary Acidic Protein Ready-to-Use ([Link](#))
13. IR607 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Neurofilament Protein Clone 2F11 Ready-to-Use ([Link](#))
14. IR615 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19 Clone RCK108 Ready-to-Use ([Link](#))
15. IR616 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein Clone DO-7 Ready-to-Use ([Link](#))
16. IR618 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 18 Clone DC 10 Ready-to-Use ([Link](#))
17. IR619 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7 Clone OV-TL 12/30 Ready-to-Use ([Link](#))
18. IR620 FLEX Monoclonal Mouse Anti- Cytokeratin 17 Clone E3 Ready-to-Use ([Link](#))



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

19. IR622 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen Clone II-7 Ready-to-Use (Link)
20. IR624 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Hepatocyte Clone OCH1E5 Ready-to-Use (Link)
21. IR626 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1 Ready-to-Use (Link)
22. IR627 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Calretinin Clone DAK-Calret 1 Ready-to-Use (Link)
23. IR629 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen Clone E29 Ready-to-Use (Link)
24. IR633 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A Clone A103 Ready-to-Use (Link)
25. IR637 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4 Ready-to-Use (Link)
26. IR647 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD57 Clone TB01 Ready-to-Use (Link)
27. IR658 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human MUC2 Clone CCP58 Ready-to-Use (Link)
28. IR659 FLEX Monoclonal Rabbit Anti-Human ERG Clone EP111 Ready-to-Use (Link)
29. IR660 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin Clone DAK-SYNAP Ready-to-Use (Link)
30. IR661 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human MUC5AC Clone CLH2 Ready-to-Use (Link)
31. IR662 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p63 Protein Clone DAK-p63 Ready-to-Use (Link)
32. IR701 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CA 125 Clone M11 Ready-to-Use (Link)
33. IR777 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20 Clone Ks20.8 Ready-to-Use (Link)
34. IR779 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Placental Alkaline Phosphatase Clone 8A9 Ready-to-Use (Link)
35. IR780 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 5/6 Clone D5/16 B4 Ready-to-Use (Link)
36. M0613 Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen Clone E29



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

37. M0758 Monoclonal Mouse Anti-Human Serotonin Clone 5HT-H209
38. M0762 Monoclonal Mouse Anti-Human Neurofilament Protein Clone 2F11
39. M0792 Monoclonal Mouse Anti-Human Prostatic Acid Phosphatase Clone PASE/4LJ
40. M0804 Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4
41. M0821 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin Clone MNF116
42. M0825 Monoclonal Mouse Anti-Human CD14 Clone TÜK4
43. M0869 Monoclonal Mouse Anti-Human Chromogranin A Clone DAK-A3
44. M0873 Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase Clone BBS/NC/VI-H14
45. M0879 Monoclonal Mouse Anti- Proliferating Cell Nuclear Antigen Clone PC10
46. M0888 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 19 Clone RCK108
47. M7001 Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein Clone DO-7
48. M7010 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 18 Clone DC 10
49. M7018 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 7 Clone OV-TL 12/30
50. M7019 Monoclonal Mouse Anti-Human CytOKeratin 20 Clone Ks20.8
51. M7046 Monoclonal Mouse Anti- Cytoeratin 17 Clone E3
52. M7072 Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen Clone II-7
53. M7158 Monoclonal Mouse Anti-Human Hepatocyte Clone OCH1E
54. M7196 Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A Clone A103
55. M7202 Monoclonal Mouse Anti-Human p21WAF1/Cip1 Clone SX118
56. M7237 Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 5/6 Clon D5/16 B4
57. M7240 Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1
58. M7257 Monoclonal Mouse Anti-Human Thyroid Peroxidase Clone MoAb47
59. M7313 Monoclonal Mouse Anti-Human MUC2 Clone CCP58
60. M7315 Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin Clone DAK-SYNAP
61. M7317 Monoclonal Mouse Anti-Human p63 Protein Clone DAK-p63
62. SK001 Hercep test for automated Link platforms
63. M3626 Monoclonal Mouse Anti-Human IMP3, Clone 69.1
64. IR094 FLEX Monoclonal Rabbit Anti-Human Cytokeratin 8/18, Clone EP17/EP30, Ready-to-Use (Link)
65. IR612 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase Clone BBS/NC/VI-H14 Ready-to-Use (Link)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

66. GA062 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD15 Clon Carb-3 Ready-to-Use (Dako Omnis)
67. GA074 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Mammaglobin Clon 304-1A5 Ready-to-Use (Dako Omnis)
68. GA500 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Fetoprotein Ready-to-Use (Dako Omnis)
69. GA504 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-S100 Ready-to-Use (Dako Omnis)
70. GA505 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Antitrypsin Ready-to-Use (Dako Omnis)
71. GA508 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Chorionic Gonadotropin Ready-to-Use (Dako Omnis)
72. GA509 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin (Dako Omnis)
73. GA515 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Calcitonin Ready-to-Use (Dako Omnis)
74. GA524 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein Ready-to-Use (Dako Omnis)
75. GA519 FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Gastrin Ready-to-Use (Dako Omnis)
76. GA607 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Neurofilament Protein Clon 2F11 Ready-to-Use (Dako Omnis)
77. GA615 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19 Clone RCK108 Ready-to-Use (Dako Omnis)
78. GA618 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 18 Clone DC 10 Ready-to-Use (Dako Omnis)
79. GA619 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7 Clone OV-TL 12/30 Ready-to-Use (Dako Omnis)
80. GA616 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein Clone DO-7 Ready-to-Use (Dako Omnis)
81. GA622 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen Clone II-7 Ready-to-Use (Dako Omnis)
82. GA624 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Hepatocyte Clon OCH1E5 Ready-to-Use (Dako Omnis)
83. GA626 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1 Ready-to-Use (Dako Omnis)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

84. GA629FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen Clone E29 Ready-to-Use (Dako Omnis)
85. GA637FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4 Ready-to-Use (Dako Omnis)
86. GA659FLEX Monoclonal Rabbit Anti-Human ERG Clon EP111 Ready-to-Use (Dako Omnis)
87. GA660FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin Clone DAK-SYNAP Ready-to-Use (Dako Omnis)
88. GA662FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human p63 Protein Clone DAK-p63 Ready-to-Use (Dako Omnis)
89. GA701FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CA 125 Clone M11 Ready-to-Use (Dako Omnis)
90. GA777FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20 Clone Ks20.8 Ready-to-Use (Dako Omnis)
91. GA780FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 5/6 Clon D5/16 B4 Ready-to-Use (Dako Omnis)
92. K5731 HER2 IQFISH pharmDx
93. GM333 HER IQFISH pharmDx (Dako Omnis)

2. Descripción de la finalidad de uso del producto

Los anticuerpos están indicados para su uso en inmunohistoquímica, para la identificación y clasificación de tumores de origen neuroepitelial incluyendo:

- adenocarcinoma de próstata,
- adenocarcinomas colorrectales,
- adenocarcinomas endometriales
- adenocarcinomas escamosos pulmonares
- adenocarcinomas gástricos,
- angiomiolipomas
- cáncer ovárico mucinoso primario
- carcinoma escamoso de cuello uterino
- carcinoma esofágico



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- carcinoma pancreático
- carcinomas colangiocelulares
- carcinomas corticosuprarrenales
- carcinomas de células transicionales de la vejiga urinaria
- carcinomas de ovario serosos
- carcinomas mamarios,
- carcinomas renales de células cromóforas
- carcinomas tiroideos
- condroblastoma,
- enfermedades hepáticas neoplásicas,
- hemangioendoteliomas epitelioides
- histiocitosis de Langerhans,
- leucemia de células pilosas
- linfomas esplénicos con linfocitos vellosos
- melanoma maligno,
- mesotelioma epitelial maligno
- metaplasia intestinal en el esófago de Barret
- metaplasia intestinal adenocarcinoma de colon con metástasis ovárica
- neoplasias de origen astrocítico/glial
- neuroblastomas,
- retinoblastomas
- schwannoma
- seminomas
- tumores de células germinales
- tumores del saco vitelino,
- tumores neuroendocrinos con segregación de gastrina

La clasificación diferencial se complementa con los resultados de un panel de anticuerpos. La interpretación de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse mediante estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas. Estos anticuerpos están indicados para su uso después de realizar



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

el diagnóstico primario del tumor mediante histopatología convencional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

3. Descripción del principio de acción del Kit

Identificación de proteínas en células y tejidos utilizando anticuerpos y un sistema de visualización que permite su identificación por el médico patólogo en el examen microscópico.

4. Reactivos suministrados

4.1 Presentación

1. 0.2 mL
2. 2 mL
3. 2 mL
4. 0.2 mL
5. 1 mL
6. 1 mL
7. 12 ml para 40-60 determinaciones
8. 12 ml para 40-60 determinaciones
9. 12 ml para 40-60 determinaciones
10. 12 ml para 40-60 determinaciones
11. 12 ml para 40-60 determinaciones
12. 12 ml para 40-60 determinaciones
13. 12 ml para 40-60 determinaciones
14. 12 ml para 40-60 determinaciones
15. 12 ml para 40-60 determinaciones
16. 12 ml para 40-60 determinaciones
17. 12 ml para 40-60 determinaciones
18. 12 ml para 40-60 determinaciones
19. 12 ml para 40-60 determinaciones
20. 12 ml para 40-60 determinaciones
21. 12 ml para 40-60 determinaciones
22. 12 ml para 40-60 determinaciones



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

23. 12 ml para 40-60 determinaciones
24. 12 ml para 40-60 determinaciones
25. 12 ml para 40-60 determinaciones
26. 12 ml para 40-60 determinaciones
27. 12 ml para 40-60 determinaciones
28. 12 ml para 40-60 determinaciones
29. 12 ml para 40-60 determinaciones
30. 12 ml para 40-60 determinaciones
31. 12 ml para 40-60 determinaciones
32. 12 ml para 40-60 determinaciones
33. 12 ml para 40-60 determinaciones
34. 12 ml para 40-60 determinaciones
35. 12 ml para 40-60 determinaciones
36. 1 y 0.2 mL
37. 1 mL
38. 0.2 mL
39. 1 mL
40. 1 y 0.2 mL
41. 1 mL
42. 1 mL
43. 1 y 0.2 mL
44. 1 y 0.2 mL
45. 1 mL
46. 1 mL
47. 1 y 0.2 mL
48. 0.2 mL
49. 1 y 0.2 mL
50. 1 y 0.2 mL
51. 1 mL
52. 1 y 0.2 mL
53. 1 mL
54. 1 y 0.2 mL



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

55. 0.2 mL
56. 1 y 0.2 mL
57. 1 y 0.2 mL
58. 0.2 mL
59. 1 y 0.2 mL
60. 1 y 0.2 mL
61. 1 y 0.2 mL
62. Kit para 50 determinaciones.
63. 0.2 mL
64. 12 ml para 40-60 determinaciones
65. 12 ml para 40-60 determinaciones
66. 12 mL.
67. 12 mL.
68. 12 mL.
69. 12 mL.
70. 12 mL.
71. 12 mL.
72. 12 mL.
73. 12 mL.
74. 12 mL.
75. 12 mL.
76. 12 mL.
77. 12 mL.
78. 12 mL.
79. 12 mL.
80. 12 mL.
81. 12 mL.
82. 12 mL.
83. 12 mL.
84. 12 mL.
85. 12 mL.
86. 12 mL.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- 87. 12 mL.
- 88. 12 mL.
- 89. 12 mL.
- 90. 12 mL.
- 91. 12 mL.
- 92. Kit para 20 determinaciones
- 93. 1.6 mL.

4.2. Contenido

Modelo #:

1. Fracción de inmunoglobulina purificada de antisuero de conejo suministrada en forma líquida. En 0,1 mol/l de NaCl y en 15 mmol/l de NaN 3.

Concentración de proteínas: consulte la etiqueta del vial.

La variación de la concentración entre diferentes lotes de A0008 es inferior al 10%. Esto se logra ajustando la concentración de cada lote individual para que iguale la concentración de una preparación de referencia del anticuerpo almacenada a -80 °C.

2. Fracción de inmunoglobulina purificada de antisuero de conejo suministrada en forma líquida. En 0,1 mol/l de NaCl y en 15 mmol/l de NaN3.

Concentración de proteínas: Consulte la etiqueta del vial. La variación de la concentración entre diferentes lotes de A0231 según se ha determinado mediante inmunodifusión radial simple es inferior al 10%. Esto se logra ajustando la concentración de cada lote individual para que iguale la concentración de una preparación de referencia del anticuerpo almacenada a -80 °C.

3. Fracción de inmunoglobulina purificada de antisuero de conejo suministrada en forma líquida. En 0,1 mol/l de NaCl y en 15 mmol/l de NaN3.

Concentración de proteínas: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

4. Anticuerpo de conejo aislado por afinidad purificado mediante péptido de oncoproteína c-erbB-2 inmovilizado y suministrado en estado líquido en Tris/HCl 0,05 mol/L, NaCl 0,1 mol/L, NaN₃ 15 mmol/L. Concentración de proteína en g/L: ver la etiqueta del vial.

5. Fracción de inmunoglobulina purificada de antisuero de conejo suministrada en forma líquida. En 0,1 mol/l de NaCl y en 15 mmol/l de NaN₃.

Concentración de proteínas: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso.

El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

6. Fracción de inmunoglobulina purificada de antisuero de conejo suministrada en forma líquida. En 0,1 mol/l de NaCl y en 15 mol/l de NaN₃.

Concentración de proteínas: Consulte la etiqueta del vial.

La variación de la concentración entre diferentes lotes de A0576 es inferior al 10%. Esto se logra ajustando la concentración de cada lote individual para que iguale la concentración de una preparación de referencia del anticuerpo almacenada a -80 °C.

7. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

8. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

9. El anticuerpo policlonal de ratón listo para su uso se suministra en forma líquida en una solución tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de NaN₃.

10. El anticuerpo policlonal de ratón listo para su uso se suministra en forma líquida en una solución tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de NaN₃.

11. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

12. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

13. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: 2F11. Isotipo: IgG1, kappa.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

14. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: RCK108. Isotipo: IgG1, kappa.

15. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: DO-7 (1). Isotipo: IgG2b, kappa.

16. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: DC 10 (7). Isotipo: IgG1, kappa.

17. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: OV-TL 12/30. Isotipo: IgG1, kappa.

18. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: E3 (6). Isotipo: IgG2b, kappa.

19. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: II-7 (3). Isotipo: IgG1, kappa.

20. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: OCH1E5 (2). Isotipo: IgG1, kappa.

21. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: MIB-1 (6). Isotipo: IgG1, kappa.

22. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: DAK-Calret 1. Isotipo: IgG1, kappa.

23. El anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso se suministra en forma líquida en una solución tampón que contiene proteína estabilizante y 0,015 mol/l de NaN_3 .

Clon: E29 Isotipo: Ig2a, kappa.


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

24. El anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso se suministra en forma líquida en una solución tampón que contiene proteína estabilizante y 0,015 mol/l de NaN₃.

Clon: A103. Isotipo: IgG1, kappa.

25. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: Ber-EP4 (4). Isotipo: IgG1, kappa.

26. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: TB01 (1, 4, 5). Isotipo: IgM, kappa.

27. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: CCP58 Isotipo: IgG1, kappa.

28. Anticuerpo monoclonal de conejo aislado por afinidad, listo para usar, suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida de sodio.

Clon: EP111. Isotipo: Rabbit IgG.

29. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: DAK-SYNAP. Isotipo: IgG1, kappa.

30. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: CLH2 (6). Isotipo: IgG1, kappa.

31. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: DAK-p63. Isotipo: IgG2a, kappa.

32. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: M11 (7). Isotipo: IgG1, kappa.

33. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: Ks20.8 (1). Isotipo: IgG2a, kappa.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

34. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: 8A9. Isotipo: IgG1, kappa.

35. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: D5/16 B4. Isotipo: IgG1, kappa.

36. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: E29. Isotipo: IgG2a, kappa.

Concentración de IgG de ratón: consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

37. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2 y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: 5HT-H209. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso.

El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

38. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2 y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: 2F11. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

39. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Clon: PASE/4LJ. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

40. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: Ber-EP4. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

41. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: MNF 116. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

42. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2 y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: TÜK4. Isotipo: IgG2a, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

43. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 50 mmol/l de Tris/HCl, pH 7,2 y con 15 mmol/l de NaN₃.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Clon: DAK-A3. Isotipo: IgG2b, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso.

El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

44. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2 y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: BBS/NC/VI-H14. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso.

El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

45. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: PC10. Isotipo: IgG2a, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

46. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2 y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: DBA.44. Isotipo: IgM, kappa.

Concentración de IgM de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

47. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Clon: DO-7. Isotipo: IgG2b, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

48. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN3.

Clon: DC 10. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

49. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN3.

Clon: OV-TL 12/30. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

50. Anticuerpo monoclonal murino suministrado en forma líquida como IgG murina purificada procedente de líquido ascítico. En Tris/HCl a 0,05 mol/l, seroalbúmina bovina al 1%, NaN3 a 15 mmol/l, pH 7,2.

Clon: Ks 20.8. Isotipo: IgG2a, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.



Biod. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

51. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: E3 (1). Isotipo: IgG2b, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

52. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: II-7. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

53. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: OCH1E5 (2). Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

54. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: A103. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

55. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: SX118 (7). Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

56. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como IgG purificada procedente de fluido ascítico.

En 0,05 mol/l de Tris/HCl, 15 mmol/l NaN₃, seroalbúmina bovina al 1%, pH 7,2.

Clon: D5/16 B4. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso.

El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

57. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, 1% de albúmina de suero bovino, pH 7,2 y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: MIB-1 (6). Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de Ig de ratón: consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

58. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2, y con 15 mmol/l de NaN₃.

Clon: MoAb47 (6). Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

59. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular (con suero bovino fetal), dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2 y con 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: CCP58. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

60. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular (con suero bovino fetal), dializado contra 0,05 mol/l de Tris-HCl, pH 7,2 y con 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: DAK-SYNAP. Isotipo: IgG1, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

61. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular (con suero fetal de ternero), dializado contra 0,05 mol/l de Tris/HCl, pH 7,2 y con 0,015 mol/l de azida sódica

Clon: DAK-p63. Isotipo: IgG2a, kappa.

Concentración de IgG de ratón en mg/l: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso.

El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

62. Cáncer de mama

Los materiales enumerados a continuación son suficientes para 50 pruebas (50 portaobjetos incubados con anticuerpo primario de proteína HER2 y 50 portaobjetos



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the printed text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is also in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

incubados con el reactivo de control negativo correspondiente). El número de pruebas se calcula en base al uso de 200 µL por corte de tejido (22 x 22 mm) de cada reactivo, excepto la Epitope Retrieval Solution. El kit suministra material suficiente para un máximo de 10 secuencias individuales de tinción.

1 x 22 mL HercepTest™ Peroxidase-Blocking Reagent peróxido de hidrógeno al 3% con azida sódica (NaN₃) a 15 mmol/L.

1 x 12 mL HercepTest™ Rabbit Anti-Human HER2 Protein anticuerpo aislado por afinidad listo para su uso. Suministrado en Tris/HCl a 0,05 mol/L, NaCl a 0,1 mol/L, NaN₃ a 15 mmol/L, a pH 7,2 con proteína estabilizadora.

Inmunógeno: fragmento sintético de la terminación C (parte intracitoplasmática) de la proteína HER2 enlazado con hemocianina de lapa californiana.

Especificidad: proteína HER2

Método de purificación: el anticuerpo se aísla por afinidad utilizando un péptido de la proteína HER2 inmovilizado.

1 x 22 mL HercepTest™ Visualization Reagent

polímero de dextrano conjugado con peroxidasa de rábano rusticano e inmunoglobulinas de cabra anti-inmunoglobulinas de conejo aisladas por afinidad. Suministrado en tampón Tris/HCl con proteína estabilizadora y agente antimicrobiano.

1 x 10 mL HercepTest™ Negative Control Reagent

fracción de inmunoglobulina de suero de conejo normal a una concentración de proteína equivalente a la del anticuerpo de la proteína HER2. Suministrado en Tris/HCl a 0,05 mol/L, NaCl a 0,1 mol/L, NaN₃ a 15 mmol/L, a pH 7,2 con proteína estabilizadora.

2 x 22 mL HercepTest™ DAB Substrate Buffer

solución tampón de sustrato, a pH 7,5, con <0,1% peróxido de hidrógeno, estabilizadores, incrementadores y agente antimicrobiano.

1 x 1 mL HercepTest™ DAB Chromogen solución cromógeno de tetraclorhidrato de 3,3'-diaminobenzidina al 5%.

3 x 500 mL HercepTest™ Epitope Retrieval Solution (Containing Detergent) (10x)

tampón citrato a 0,1 mol/L con detergente.

2 x 5 portaobjetos HercepTest™ Control Slides, cada portaobjetos contiene cortes de tres líneas celulares de carcinoma de mama incluidos en parafina y fijados con formol que representan diferentes niveles de expresión de la proteína HER2. MDA-231 (0), MDA-175



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

(1+) y SK-BR-3 (3+). Los portaobjetos de control se han tratado con calor para mejorar la adherencia de los cortes a los portaobjetos. Cualquier otro tratamiento por calor de los portaobjetos de control realizado para mejorar la adherencia de los cortes a los portaobjetos puede afectar a los resultados de la tinción.

10 x frascos Frasco de reactivo rellenable por el usuario, capacidad 12 ml. Cada frasco puede contener 12 ml de reactivo. Los frascos deben utilizarse para mezclar y almacenar la Substrate-Chromogen Solution (véase también "Preparación de los reactivos").

Cáncer gástrico

Anticuerpo primario de proteína HER2 y 50 portaobjetos incubados con el reactivo de control negativo correspondiente). El número de pruebas se calcula en base al uso de 200 μ L por corte de tejido (22 x 22 mm) de cada reactivo, excepto la Epitope Retrieval Solution. El kit suministra material suficiente para un máximo de 10 secuencias individuales de tinción.

1 x 22 mL HercepTest™ Peroxidase-Blocking Reagent

peróxido de hidrógeno al 3% con azida sódica (NaN_3) a 15 mmol/L.

1 x 12 mL HercepTest™ Rabbit Anti-Human HER2 Protein

anticuerpo aislado por afinidad listo para su uso. Suministrado en Tris/HCl a 0,05 mol/L, NaCl a 0,1 mol/L, NaN_3 a 15 mmol/L, a pH 7,2 con proteína estabilizadora.

Inmunógeno: fragmento sintético de la terminación C (parte intracitoplasmática) de la proteína HER2 enlazado con hemocianina de lapa californiana.

Especificidad: proteína HER2

Método de purificación: el anticuerpo se aísla por afinidad utilizando un péptido de la proteína HER2 inmovilizado.

1 x 22 mL HercepTest™ Visualization Reagent

polímero de dextrano conjugado con peroxidasa de rábano rusticano e inmunoglobulinas de cabra anti-inmunoglobulinas de conejo aisladas por afinidad. Suministrado en tampón Tris/HCl con proteína estabilizadora y agente antimicrobiano.

1 x 10 mL HercepTest™ Negative Control Reagent

fracción de inmunoglobulina de suero de conejo normal a una concentración de proteína equivalente a la del anticuerpo de la proteína HER2. Suministrado en Tris/HCl a 0,05 mol/L, NaCl a 0,1 mol/L, NaN_3 a 15 mmol/L, a pH 7,2 con proteína estabilizadora.

2 x 22 mL HercepTest™ DAB Substrate Buffer



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

solución tampón de sustrato, a pH 7,5, con <0,1% peróxido de hidrógeno, estabilizadores, incrementadores y agente antimicrobiano.

1 x 1 mL HercepTest™ DAB Chromogen solución cromógeno de tetraclorhidrato de 3,3'-diaminobenzidina al 5%.

3 x 500 mL HercepTest™ Epitope Retrieval Solution (Containing Detergent) (10x) tampón citrato a 0,1 mol/L con detergente.

2 x 5 portaobjetos HercepTest™ Control Slides, cada portaobjetos contiene cortes de tres líneas celulares de carcinoma de mama incluidos en parafina y fijados con formol que representan diferentes niveles de expresión de la proteína HER2. MDA-231 (0), MDA-175 (1+) y SK-BR-3 (3+). Los portaobjetos de control se han tratado con calor para mejorar la adherencia de los cortes a los portaobjetos. Cualquier otro tratamiento por calor de los portaobjetos de control realizado para mejorar la adherencia de los cortes a los portaobjetos puede afectar a los resultados de la tinción.

10 x frascos, Frasco de reactivo rellenable por el usuario, capacidad 12 ml

Cada frasco puede contener 12 ml de reactivo. Los frascos deben utilizarse para mezclar y almacenar la Substrate-Chromogen Solution (véase también "Preparación de los reactivos").

NOTA: todos los reactivos han sido formulados específicamente para uso con esta prueba. Para realizar la prueba según lo especificado, no puede hacerse ninguna sustitución.

63. Anticuerpo monoclonal de ratón suministrado en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular (con suero bovino fetal), dializado contra 0,02 mol/l de PBS, pH 6,0 y con 0,015 mol/l de azida sódica. Este producto contiene proteína estabilizadora.

Clon: 69,1. Isotipo: IgG2a, kappa.

Concentración de IgG de ratón: Consulte la etiqueta del vial.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

64. Una mezcla de dos anticuerpos monoclonales de conejo suministrados en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular en 0,05 mol/l de Tris-HCl y 0,015 mol/l de azida sódica, pH 7,2. Este producto contiene proteína estabilizadora.

Clon: EP17/EP30. Isotipo: Rabbit IgG.



BIOD. ALIDA LUCIA ÁLVAREZ
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

65. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: BBS/NC/VI-H14. Isotipo: IgG1, kappa.

66. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica. Clon: Carb-3. Isotipo: IgM, kappa.

67. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de azida sódica.

Clon: 304-1A5 (3) Isotipo: IgG1, kappa.

68. Anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

69. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

70. Anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

71. Anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

72. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

73. Anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

74. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

75. El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

76. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: 2F11 (6) Isotipo: IgG1, kappa.

77. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: RCK108. Isotipo: IgG1, kappa.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

78. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: DC 10 (7). Isotipo: IgG1, kappa.
79. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: OV-TL 12/30. Isotipo: IgG1, kappa.
80. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: DO-7 (1). Isotipo: IgG2b, kappa.
81. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: II-7 (3). Isotipo: IgG1, kappa.
82. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: OCH1E5 (2). Isotipo: IgG1, kappa.
83. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: MIB-1 (8). Isotipo: IgG1, kappa.
84. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: E29 Isotipo: Ig2a, kappa.
85. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: Ber-EP4 (4). Isotipo: IgG1, kappa.
86. Anticuerpo monoclonal de conejo listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: EP111. Isotipo: Rabbit IgG.
87. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
Clon: DAK-SYNAP. Isotipo: IgG1, kappa.
88. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Clon: DAK-p63. Isotipo: IgG2a, kappa.

89. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: M11 (7). Isotipo: IgG1, kappa.

90. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: Ks20.8 (1). Isotipo: IgG2a, kappa.

91. Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.

Clon: D5/16 B4. Isotipo: IgG1, kappa.

92. Cáncer de mama

Material suministrado

Los materiales enumerados a continuación son suficientes para 20 pruebas (una prueba se define como un área diana de 22 mm x 22 mm). El número de pruebas se basa en el uso de 250 µL por portaobjetos del Vial 2A (5-8 gotas), 10 µL por portaobjetos del Vial 3, y 15 µL por portaobjetos del Vial 5). Las soluciones del Vial 3 y el Vial 5 son viscosas y es posible que haya que centrifugarlas brevemente en una microcentrifugadora para recoger todo el reactivo suministrado.

El kit proporciona suficientes materiales para 10 ciclos de tinción individuales (cuatro ciclos separados si se usa el método de inmersión en pepsina). HER2 IQFISH pharmDx se suministra en hielo seco. Los componentes del kit no se han expuesto a altas temperaturas durante el transporte siempre que todavía haya hielo seco cuando usted reciba el kit. Si algunos componentes del kit permanecen sin congelar, esto no afecta a la eficacia de HER2 IQFISH pharmDx.

Vial

1 Solución de pretratamiento (20x)

150 mL, concentrado 20x

Tampón MES (ácido 2-[N-morfolin]etanosulfónico).

Vial 2A

Pepsina

4 x 6,0 mL, listo para su uso

La solución de pepsina, pH 2,0, contiene un estabilizante y un agente antimicrobiano.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is above the printed name: BIOD. Alida Lucía Álvarez, Directora Técnica, Matriculada Provincial N° 7.998. The second signature is in blue ink and is above the printed name: ALEJANDRO BOGINOVICH, ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A., APODERADO.

Vial 2B

Diluyente de pepsina (10x)

24 mL, concentrado 10x

Búfer de dilución, pH 2,0, contiene un agente antimicrobiano.

Vial 3

Mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH

0,2 mL, listo para su uso

Mezcla de sondas de ADN marcada con Texas Red HER2 y sondas de ANP CEN-17 marcada con fluoresceína; suministradas en tampón de hibridación IQISH.

Vial 4

Tampón de lavado astringente (20x)

150 mL, concentrado 20x

Tampón SSC (solución salina con citrato sódico) con detergente (Tween-20).

Vial 5

Medio de montaje fluorescente

0,4 mL, listo para su uso

Medio de montaje fluorescente con 500 µg/L de DAPI (4',6-diamidina-2-fenilindol).

Vial 6

Tampón de lavado (20x)

500 mL, concentrado 20x

Tampón Tris/HCl.

Sellador de cubreobjetos

1 tubo, listo para su uso

Solución para el sellado eliminable de cubreobjetos.

NOTA: Los siguientes reactivos del kit: La solución de pretratamiento (20x), pepsina, diluyente de pepsina (10x), tampón de lavado astringente (20x), medio de montaje fluorescente, tampón de lavado (20x) y sellador de cubreobjetos son intercambiables con los reactivos correspondientes del Dako Histology FISH Accessory Kit, nº de catálogo K5799.

Cancer gástrico

Material suministrado



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Los materiales enumerados a continuación son suficientes para 20 pruebas (una prueba se define como una área diana de 22 mm x 22 mm). El número de pruebas se basa en el uso de 250 µL por portaobjetos del Vial 2A (5-8 gotas), 10 µL por portaobjetos del Vial 3, y 15 µL por portaobjetos del Vial 5). Las soluciones del Vial 3 y el Vial 5 son viscosas y es posible que haya que centrifugarlas brevemente en una microcentrifugadora para recoger todo el reactivo suministrado.

El kit proporciona suficientes materiales para 10 ciclos de tinción individuales (cuatro ciclos separados si se usa el método de inmersión en pepsina). HER2 IQFISH pharmDx se suministra en hielo seco. Los componentes del kit no se han expuesto a altas temperaturas durante el transporte siempre que todavía haya hielo seco cuando usted reciba el kit. Si algunos componentes del kit permanecen sin congelar, esto no afecta a la eficacia de HER2 IQFISH pharmDx.

Vial 1

Solución de pretratamiento (20x)

150 mL, concentrado 20x

Tampón MES (ácido 2-[N-morfolin]etanosulfónico).

Vial 2A

Pepsina

4 x 6,0 mL, listo para su uso

La solución de pepsina, pH 2,0, contiene un estabilizante y un agente antimicrobiano.

Vial 2B

Diluyente de pepsina (10x)

24 mL, concentrado 10x

Búfer de dilución, pH 2,0, contiene un agente antimicrobiano.

Vial 3

Mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH

0,2 mL, listo para su uso

Mezcla de sondas de ADN marcada con Texas Red HER2 y sondas de ANP CEN-17 marcadas con fluoresceína; suministradas en tampón de hibridación IQISH

Vial 4

Tampón de lavado astringente (20x)

150 mL, concentrado 20x



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is above the printed name: Bco. Alida Lucía Álvarez, Directora Técnica, Matricula Provincial N° 7.998. The second signature is in blue ink and is above the printed name: ALEJANDRO BOGINOVICH, ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A., APODERADO.

Tampón SSC (solución salina con citrato sódico) con detergente (Tween-20).

Vial 5

Medio de montaje fluorescente

0,4 mL, listo para su uso

Medio de montaje fluorescente con 500 µg/L de DAPI (4',6-diamidina-2-fenilindol).

Vial 6

Tampón de lavado (20x)

500 mL, concentrado 20x

Tampón Tris/HCl.

Sellador de cubreobjetos

1 tubo, listo para su uso

Solución para el sellado eliminable de cubreobjetos.

NOTA: Los siguientes reactivos del kit: La solución de pretratamiento (20x), la pepsina, el diluyente de pepsina (10x), el tampón de lavado astringente (20x), el medio de montaje fluorescente, el tampón de lavado (20x) y el sellador de cubreobjetos son intercambiables con los reactivos correspondientes del Dako Histology FISH Accessory Kit, nº de catálogo K5799.

93.

HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis): mezcla de 1,6 ml lista para su uso de sondas de ADN para HER2 marcadas con Texas Red y sondas de ANP CEN-17 marcadas con fluoresceína, suministrada en el tampón de hibridación IQISH.

HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se suministra sobre hielo seco. Como garantía de que el reactivo no se ha expuesto a altas temperaturas durante el transporte, aún debe quedar hielo seco en el envío en el momento de la recepción. Los viales de reactivos, junto con su contenido descongelado, deben almacenarse y manipularse en posición vertical en todo momento.

El vial del reactivo contiene una bola metálica recubierta de oro que permite la mezcla del reactivo con el dispositivo de mezcla Dako Omnis (consulte el Manual del usuario del dispositivo de mezcla Dako Omnis). Es importante que el reactivo se mezcle concienzudamente antes de cargarlo en Dako Omnis.

5. Instrucciones de uso modelos 1 a 6

Preparación de la muestra



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is above the text: Biot. Alida Lucía Álvarez, Directora Técnica, Matricula Provincial N° 7.998. The signature on the right is also in blue ink and is above the text: ALEJANDRO BOGINOVICH, ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A., APODERADO.

Cortes de parafina: el anticuerpo puede utilizarse para marcar los cortes de tejido en parafina y fijados en formol. Se recomienda el tratamiento de los tejidos desparafinizados con proteinasa K o la recuperación del epítipo inducida por calor. No permita que las secciones de tejido se sequen durante el tratamiento ni durante el procedimiento de tinción inmunohistoquímica siguiente.

Cortes congelados y preparaciones de células: El marcado de las preparaciones de células tiroideas se realizó tras la fijación en carbodiimida al 2%, líquido de Gendre de Lison y formol al 2 o 4%, mientras que la solución de Bouin, la de Carnoy A y B, el formol-calcio, la solución de Lillie (etanol, ácido acético y formaldehído) y, especialmente los fijadores de glutaraldehído al 2% produjeron todos una reducción en la cantidad detectable de Tg intracelular. No se obtuvo ningún marcado tras el secado con aire o el tratamiento con metanol-H₂O₂ o acetona (4). El usuario debe validar el procedimiento de tinción.

Procedimiento de tinción

Estas solo son pautas orientativas. Las condiciones óptimas pueden variar en función del tipo de muestra y del método de preparación y deberán ser validadas individualmente en cada laboratorio. El rendimiento de este anticuerpo debe ser establecido por parte del usuario si se utiliza con otros sistemas de tinción manual o plataformas automatizadas.

Dilución: puede utilizarse con un rango de dilución de 1:400-1:800 al aplicarlo en cortes de hígado fetal humano en parafina y fijados en formol y una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente con el anticuerpo primario. El control negativo recomendado es Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid- Phase Absorbed), n.º de catálogo X0936, diluido a la misma concentración de proteína que el anticuerpo primario. A menos que se haya establecido la estabilidad en el sistema de prueba real, es recomendable diluir el producto inmediatamente antes del uso o diluirlo en Dako Antibody Diluent, n.º de catálogo S0809.

Control de calidad: Los tejidos de control positivo y negativo, así como el reactivo de control negativo, deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente.

Visualización: Se recomienda Dako EnVision+ y los kits HRP, por ejemplo, n.º de catálogo K4009. Siga el procedimiento incluido con el kit de visualización seleccionado.

6. Instrucciones de uso modelos 7 a 35

Preparación de las muestras



El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm. Se requiere el pretratamiento con recuperación del epítipo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link. Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (n.º de catálogo K8004)

Cortes en parafina: Se recomienda el pretratamiento de los cortes de tejido en parafina y fijados en formol siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un método de montaje permanente.

Cortes desparafinados: Se recomienda el pretratamiento de los cortes de tejido desparafinados, en parafina y fijados en formol con Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes de tejido en parafina. Una vez teñidos los portaobjetos hay que montarlos con un método de montaje permanente o acuoso.

No permita que las secciones de tejido se sequen durante el tratamiento ni durante el procedimiento de tinción inmunohistoquímica siguiente. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos de vidrio, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (n.º de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción

El sistema de visualización recomendado es EnVision FLEX, High pH (Link) (n.º de catálogo K8000). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software del Autostainer Link. El volumen de aplicación de reactivo recomendado es de 1 x 200 µl o 2 x 150 µl por portaobjetos. Consulte la Guía del usuario del Autostainer Link para ver instrucciones detalladas sobre la carga de portaobjetos y reactivos. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Autostainer utilizado, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Dako. Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Se recomienda la contratinción con hematoxilina usando EnVision FLEX Hematoxylin, (Link) (n.º de catálogo K8008).

Los tejidos de control positivo y negativo, así como el reactivo de control negativo, deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

paciente. El tejido de control positivo debe incluir el carcinoma embrionario y las células/estructuras deben mostrar patrones de reacción como se describe para estos tejidos en la sección "Características de resultados". El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Link) (n.º de catálogo IR750).

7. Instrucciones de uso modelos 36 a 61, 63 a 65.

Preparación de la muestra

Cortes de parafina: el anticuerpo puede utilizarse para marcar los cortes de tejido en parafina y fijados con formol, fijador de Bouin, fijador de B5 o solución de Zenker (5). Se recomienda el pretratamiento de los tejidos desparafinados con proteinasa K o la recuperación del epítipo inducida por calor. Para la recuperación del epítipo inducida por calor de tejidos fijados con formol, obtendrá resultados óptimos con Dako Target Retrieval Solution, n.º de catálogo S1700, tampón citrato de 10 mmol/l, tampón Tris con pH 6,0 o de 10 mmol/l y tampón EDTA de 1 mmol/l, pH 9,0. No permita que las secciones de tejido se sequen durante el tratamiento ni durante el procedimiento de tinción inmunohistoquímica siguiente.

Cortes congelados y preparaciones de células: el anticuerpo puede utilizarse para marcar los cortes congelados fijados con acetona. El usuario debe validar el procedimiento de tinción.

Procedimiento de tinción

Estas solo son pautas orientativas. Las condiciones óptimas pueden variar en función del tipo de muestra y del método de preparación y deberán ser validadas individualmente en cada laboratorio. El rendimiento de este anticuerpo debe ser establecido por parte del usuario si se utiliza con otros sistemas de tinción manual o plataformas automatizadas.

Dilución: Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Membrane Antigen, n.º de catálogo M0613, puede utilizarse a un rango de dilución de 1:50-1:100 al aplicarlo en cortes de amígdala humana en parafina y fijados con formol, con una recuperación del epítipo inducida por calor de 20 minutos en Dako Target Retrieval Solution, n.º de catálogo S1700, y una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente con el anticuerpo primario. El control negativo recomendado es Dako Mouse IgG2a, n.º de catálogo X0943, diluido a la misma concentración de IgG de ratón que el anticuerpo primario. A menos que se haya establecido la estabilidad del anticuerpo diluido y del control negativo en el procedimiento



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

de tinción propiamente dicho, se recomienda diluir estos reactivos inmediatamente antes de su uso, o bien diluirlos con Dako Antibody Diluent, n.º de catálogo S0809.

Control de calidad: los tejidos de control positivo y negativo, así como el reactivo de control negativo, deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente.

Visualización: se recomienda Dako EnVision+ y los kits HRP, por ejemplo, n.º de catálogo K4005. Siga el procedimiento incluido con el kit de visualización seleccionado

8. Instrucciones de uso modelo 62

Cáncer de mama

Preparación de las muestras:

Los especímenes de biopsia deben manipularse de forma que se conserve el tejido para la tinción inmunocitoquímica. Deben utilizarse los métodos estándar de procesamiento de tejidos para todos los especímenes (15).

Secciones incluidas en parafina

Los tejidos conservados en formol tamponado neutro o fijados con Bouin para su procesamiento rutinario y la inclusión en parafina son adecuados para el uso. Por ejemplo, con los especímenes de biopsia deben hacerse bloques de un grosor de 3 ó 4 mm y fijarse durante 18–24 horas en formol tamponado neutro. Los tejidos se deshidratan en una serie de alcoholes y xileno, y luego se realiza una infiltración con parafina fundida a no menos de 60 °C. Los tejidos correctamente fijados e incluidos que expresan la proteína HER2, se conservarán indefinidamente antes de su corte y montaje en portaobjetos si se almacenan en un sitio fresco (15–25 °C) (15,16). En EE.UU., la Ley de Mejoras de Laboratorio Clínico de 1988 exige en el apartado 42 CFR 493.1259(b) que “El laboratorio debe conservar los portaobjetos teñidos como mínimo durante diez años a partir de la fecha del análisis y los bloques de espécimen como mínimo durante dos años a partir de la fecha del análisis” (16). Las muestras de tejido se deben cortar en secciones de 4–5 µm, montar en portaobjetos y dejarlas secar al aire a temperatura ambiente por un mínimo de 12 horas (o hasta que estén secas) o a 37 °C durante toda la noche o a 60 °C durante una hora. CUIDADO: El calentamiento excesivo durante más de una hora a ≥ 60 °C puede causar una disminución significativa o la pérdida de la inmunoreactividad para HER2 asociada a la membrana específica (17).



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is written over the printed name and title of BIOD. Alida Lucía Álvarez, Directora Técnica, with Matriculación Provincial N° 7.998. The second signature is in blue ink and is written over the printed name and title of ALEJANDRO BOGINOVICH, ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A., APODERADO.

Para conservar la antigenicidad, los cortes de tejido montados en portaobjetos (portaobjetos SuperFrost Plus, con poli-L-lisina o silanizados) deben teñirse dentro de un período de 4 a 6 semanas tras ser cortados si se mantienen a temperatura ambiente (20–25 °C) (18). Los portaobjetos necesarios para la evaluación de la proteína HER2 y la verificación de la presencia tumoral deben prepararse simultáneamente. Se recomienda un mínimo de 5 portaobjetos, uno para determinar la presencia de tumores, dos para evaluar la proteína HER2 (uno para la incubación con la proteína anti-HER2 humana de conejo y otro para la incubación con el reactivo de control negativo), y dos de seguridad. Para conservar la antigenicidad, los cortes de tejido, montados en portaobjetos (portaobjetos SuperFrost Plus, con poli-L-lisina o silanizados) deben teñirse dentro de un período de 4 a 6 semanas tras ser cortados si se mantienen a temperatura ambiente (20–25 °C) (18).

El uso de HercepTest™ en tejidos descalcificados no ha sido validado, por lo que no puede recomendarse.

Consultar la “Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods” (19) de Dako y con las referencias 15 y 16 para más detalles sobre la preparación de muestras.

Tratamiento de los tejidos antes de la tinción

Para un rendimiento óptimo del ensayo, debe utilizarse un método específico de recuperación de epítipo, en tampón citrato a 0,01 mol/L. La Epitope Retrieval Solution se suministra con el kit HercepTest™. Este método implica el calentamiento de los cortes de tejido montados en portaobjetos sumergidos en 0,01 mol/L de tampón citrato (20) en un baño maría calibrado o Dako PT Link (Nº de catálogo PT101 y PT200) a la temperatura necesaria (95–99 °C). Los laboratorios ubicados en altitudes elevadas deben determinar el mejor método de mantener la temperatura necesaria. Se han estudiado otros métodos de recuperación del epítipo que no han dado resultados reproducibles. Una desviación del procedimiento descrito puede alterar los resultados.

Es conveniente preparar los siguientes reactivos antes de realizar la tinción:

Epitope Retrieval Solution

Diluya una cantidad suficiente HercepTest™ Epitope Retrieval Solution a 1:10 utilizando agua destilada o desionizada para el procedimiento de tinción previsto. La solución diluida no utilizada puede utilizarse durante una semana a temperatura ambiente o almacenarse entre 2 y 8 °C durante un mes. Si la solución diluida presenta un aspecto turbio, deséchela. Para más información, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial Nº 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Wash Buffer

Diluya una cantidad suficiente de Dako Wash Buffer (nº de catálogo S3006) 1:10 con agua destilada o desionizada. El tampón diluido no utilizado puede utilizarse durante una semana a temperatura ambiente o almacenarse entre 2 y 8 °C durante un mes. Deseche la solución tampón si tiene un aspecto turbio. Para más información, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).

Substrate-Chromogen Solution (DAB)

Prepare la solución sustrato-cromógeno en los frascos rellenables por el usuario añadiendo 25 µL de cromógeno DAB por mL de tampón de sustrato DAB y mézclelo. La solución preparada Substrate-Chromogen Solution (DAB) se mantiene estable aproximadamente unos 5 días si se almacena a entre 2 y 8 °C. Esta solución debe mezclarse minuciosamente antes de su utilización. La calidad de la tinción no se verá afectada por la formación de precipitado en la solución.

El frasco rellenable por el usuario que contiene la solución sustrato-cromógeno mezclada debe definirse en la Dako Automated Link platform antes de su uso. Para más información, consulte la Guía del usuario de su(s) Dako Automated Link platform(s).

NOTA: el color del cromógeno DAB puede variar desde un color claro hasta un color marrón lavanda claro. Esto no afectará a la eficacia de este producto. Realice la dilución de acuerdo con las instrucciones indicadas en este prospecto del envase. La adición excesiva de DAB Chromogen al DAB Buffered Substrate ocasionará el deterioro de la señal positiva.

Contratinción

El producto final teñido resultante de la reacción de tinción de DAB es insoluble en alcohol y agua. Puede utilizarse Hematoxylin for Automated Link Platforms (nº de catálogo SK308) como contratinción. Los pasos y los tiempos de incubación requeridos han sido preprogramados en el Dako Link software. No es necesaria la preparación del reactivo.

Medio de montaje

Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente. No obstante, el montaje acuoso también resulta aceptable. Se recomiendan los medios de montaje Dako Faramount Aqueous Mounting Medium, Ready-to-use (nº de catálogo S3025) o Dako Glycergel™ Mounting Medium (nº de catálogo C0563) para el montaje acuoso. Licúe Glycergel calentándolo a aproximadamente 40 (±5) °C antes de usar.

Procedimiento de tinción



Notas referentes al procedimiento

El usuario debe leer atentamente estas instrucciones y familiarizarse con todos los componentes e instrumental antes de utilizarlos (véase la sección “Precauciones”).

No deje que los cortes de tejido se sequen en ningún momento durante el procedimiento de tinción. Los cortes de tejido secos pueden mostrar una mayor tinción no específica.

Todos los pasos y los tiempos de incubación requeridos para la eliminación de la parafina, la recuperación del epítipo y la tinción han sido preprogramados en el Dako Link software. Consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s) para obtener información sobre los protocolos de programación y la carga de portaobjetos y reactivos.

Si se interrumpe el procedimiento de tinción, los portaobjetos pueden conservarse en un baño de tampón después de la incubación del anticuerpo primario como máximo una hora a temperatura ambiente (20–25 °C) sin que afecte al rendimiento de la tinción.

Eliminación de la parafina y rehidratación

Antes de la tinción, los portaobjetos con los tejidos deben desparafinarse, para eliminar el medio de inclusión, y rehidratarse. Evite una retirada incompleta de la parafina. Cualquier residuo del medio de inclusión provocaría un aumento de la tinción no específica. Este paso debe realizarse a temperatura ambiente (20–25 °C).

1. Coloque los portaobjetos en un baño de xileno e incúbelos durante 5 (\pm 1) minutos. Cambie los baños y repita una vez.
2. Elimine el exceso de líquido y coloque los portaobjetos en etanol puro durante 3 (\pm 1) minutos. Cambie los baños y repita una vez.
3. Elimine el exceso de líquido y coloque los portaobjetos en etanol al 95% durante 3 (\pm 1) minutos. Cambie los baños y repita una vez.
4. Elimine el exceso de líquido golpeando suavemente los portaobjetos e introdúzcalos en agua destilada o desionizada un mínimo de 30 segundos. Comience el procedimiento de tinción como se indicó en la sección protocolo de tinción en Recuperación del epítipo.

Las soluciones de xileno y alcohol deben cambiarse después de 40 portaobjetos. Pueden utilizarse sustitutos del tolueno y del xileno, como Histoclear.

NOTA: los reactivos y las instrucciones suministradas en este kit han sido diseñados para una eficacia óptima. Una mayor dilución de los reactivos o la alteración de las temperaturas de incubación puede conducir a resultados erróneos o discordantes. Las diferencias en el procesamiento de tejidos y los procedimientos técnicos en el laboratorio del usuario pueden



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

invalidar los resultados del ensayo para su utilización en la selección de pacientes para la terapia de Herceptin™.

Protocolo de tinción

Todos los pasos y los tiempos de incubación requeridos para la recuperación del epítipo y la tinción han sido preprogramados en el Automated Link platforms software. Tras la eliminación de la parafina y la rehidratación, y recuperación del epítipo, el instrumento procesará los portaobjetos tal como se describe a continuación.

Paso 1: Recuperación de epítipo

Llene los tanques del módulo Dako PT o el recipiente de tinción, por ejemplo recipientes de Coplin, con Epitope Retrieval Solution (consulte la sección Preparación de los reactivos).

Para el Dako PT Link (Nº de catálogo PT101 y PT200): Precaliente la solución Epitope Retrieval Solution diluida en el tanque Dako PT Link a 85 °C. La Epitope Retrieval Solution adquiere un aspecto turbio al calentarla. Coloque los cortes desparafinizados a temperatura ambiente en las gradillas del Autostainer y sumerja los portaobjetos en la solución Epitope Retrieval Solution precalentada. Deje que el Dako PT Link se caliente hasta 97 °C e incube durante 40 (± 1) minutos a 97 °C. Deje que los cortes se enfríen en el Dako PT Link hasta que la temperatura alcance 85 °C. Retire los tanques PT Link con los cortes del Dako PT Link. Deje los tanques en la mesa durante 10 minutos con la tapa quitada para conseguir un mayor enfriamiento. Enjuague los cortes con tampón de lavado. Para más información, consulte la Guía del usuario del Dako PT Link.

Para los recipientes de Coplin: Coloque los recipientes de tinción con la Epitope Retrieval Solution diluida en un baño de agua. Caliente el baño de agua y la Epitope Retrieval Solution a 95–99 °C. La Epitope Retrieval Solution adquiere un aspecto turbio al calentarla. Tape los recipientes para estabilizar la temperatura y evitar la evaporación. Sumerja los cortes desparafinizados a temperatura ambiente en la Epitope Retrieval Solution precalentada de los recipientes de tinción. Lleve la temperatura del baño de agua y la Epitope Retrieval Solution hasta 95–99 °C. Incube durante 40 (± 1) minutos a 95–99 °C. Saque la jarra entera con los portaobjetos del baño de agua. Deje que los portaobjetos se enfríen en la Epitope Retrieval Solution durante 20 (± 1) minutos a temperatura ambiente. Trasvase la Epitope Retrieval Solution y enjuague los cortes en el tampón de lavado.

Para un rendimiento óptimo, sumerja los cortes en tampón de lavado durante 5–20 minutos después de la recuperación del epítipo y antes de la tinción.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

NOTA: la Epitope Retrieval Solution está pensada para una aplicación de un solo uso. No la reutilice.

Paso 2: Procedimiento de tinción

Tras la recuperación del epítipo, los portaobjetos situados en las gradillas del instrumento se sacarán de los depósitos de inmersión y se colocarán en las Dako Automated Link platforms. El instrumento realizará el proceso de tinción aplicando el reactivo apropiado, monitorizando el tiempo de incubación y enjuagando los portaobjetos entre reactivos. Los tiempos de incubación de los reactivos han sido preprogramados en el Dako Link software.

Paso 3: Contratinción

Los portaobjetos pueden contratarse con Hematoxylin for Automated Link Platforms (nº de catálogo SK308). Existen dos protocolos en el Dako software. Uno de ellos comprende una contratinción con hematoxilina y el otro no. El tiempo de incubación de la hematoxilina está preprogramado en el protocolo que comprende la contratinción. Para más información acerca de los protocolos de programación, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).

Paso 4: Montaje

Se recomienda un medio de montaje no acuoso y permanente. De todas formas, un medio de montaje acuoso también resulta aceptable. Las muestras pueden montarse y cubrirse con un medio de montaje con base de agua, como Dako Faramount (nº de catálogo S3025) o Dako Glycergel™ (nº de catálogo C0563).

NOTA: los portaobjetos pueden leerse cuando resulte apropiado. No obstante, puede que se pierda el color si los portaobjetos se cubren con un medio de montaje acuoso y se exponen a una luz intensa durante una semana. Para minimizar la pérdida de tinte, almacene los portaobjetos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20–25 °C).

Control de calidad

Las diferencias en la fijación, el procesamiento y la inclusión de tejidos en el laboratorio del usuario pueden generar una variabilidad significativa de los resultados, lo que requeriría un rendimiento regular de los controles internos además de los portaobjetos de control suministrados por Dako. En los Estados Unidos deben consultarse las pautas de control de calidad del College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry, además del CLSI (anteriormente NCCLS) Quality Assurance for



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial Nº 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Immunocytochemistry, Approved Guideline (23), y la referencia 24 para obtener información adicional.

Tabla 1: Propósito del control de calidad diario.

<i>Tejido: muestra equivalente a paciente fijada y procesada</i>	<i>Anticuerpo específico y sistema de detección</i>	<i>Anticuerpo inespecífico* o tampón y el mismo sistema de detección utilizado con el anticuerpo específico</i>
Control positivo: El tejido o las células que contengan el antígeno objetivo que deba detectarse (puede estar situado en el tejido del paciente). El control ideal es un tejido con una tinción ligeramente positiva, ya que de este modo es más sensible a la degradación del anticuerpo o el antígeno.	Controla todos los pasos del análisis. Valida el reactivo y los procedimientos utilizados para la tinción de la proteína HER2.	Detección de tinción de fondo no específica.
Control negativo: Tejidos o células que se prevén negativos (pueden estar situados en el tejido del paciente o el tejido de control positivo)	Detección de reactividad cruzada no buscada del anticuerpo con las células o componentes celulares.	Detección de tinción de fondo no específica.
Tejido de paciente	Detección de tinción específica	Detección de tinción de fondo no específica.
Portaobjeto de control suministrado por Dako	Controla solamente el procedimiento de tinción	

*El suero es de la misma especie que el anticuerpo específico, pero no va dirigido al mismo antígeno objetivo. Para detectar un ligamiento de anticuerpo no específico, por ejemplo, ligamiento de la porción Fc del anticuerpo al tejido.

Portaobjetos de control (suministrados)

Cada uno de los portaobjetos de control contiene tres líneas celulares con cáncer de mama humano en pellet, incluidas en parafina y fijadas en formol con unas puntuaciones de intensidad de tinción de 0, 1+ y 3+. En cada secuencia de tinción debe teñirse sólo un portaobjeto. La evaluación de las líneas celulares del portaobjeto de control suministrado por Dako indica la validez de la secuencia de tinción.

Tejidos de control positivo

Los controles deben ser especímenes procedentes de autopsia, biopsia o quirúrgicos fijados, procesados e incluidos tan rápido como sea posible de la misma forma que las muestras de pacientes. Los controles de tejido positivos indican si los tejidos se han preparado correctamente y si se han utilizado las técnicas de tinción oportunas. Debe incluirse un tejido de control positivo para cada conjunto de condiciones de prueba en cada secuencia de tinción.




 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Los tejidos de control positivo deben mostrar una tinción positiva débil para que puedan detectar cambios leves en la sensibilidad del anticuerpo primario. Los portaobjetos de control suministrados con este kit o los especímenes procesados de forma diferente de la(s) muestra(s) del paciente validan sólo el rendimiento del reactivo y no verifican la preparación del tejido. Utilice la proteína HER2 2+ determinada con anterioridad que sobreexpresen tejido de carcinoma de mama humano invasivo (infiltrado) para un tejido de control positivo óptimo.

NOTA: el tejido de control positivo conocido sólo debe utilizarse para realizar el seguimiento del rendimiento correcto de los tejidos procesados y los reactivos de la prueba y NO como una ayuda para formular un diagnóstico específico de las muestras de paciente. Si el tejido de control positivo no consigue demostrar una tinción positiva apropiada, los resultados de los especímenes de paciente deberán considerarse inválidos.

Tejidos de control negativo

Utilice un tejido de control negativo (que se haya demostrado negativo para la proteína HER2) fijado, procesado e incluido de idéntica forma a la muestra o las muestras de paciente de cada secuencia de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario y ofrecer una indicación de una tinción de fondo específica. El colon, el hígado o el tiroides son apropiados como tejido de control negativo. La variedad de tipos celulares diferentes presentes en la mayoría de cortes de tejido ofrece puntos de control negativo internos (debe verificarlo el usuario). Los conductos mamarios normales pueden actuar como controles negativos internos.

Si se produce una tinción específica en el tejido de control negativo o en el tejido de control negativo interno, los resultados de los especímenes de pacientes deben considerarse inválidos y debe repetirse la prueba.

Para más información acerca de la programación de los portaobjetos de control, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).

Reactivo de control negativo inespecífico

Utilice el reactivo de control negativo suministrado en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada espécimen de paciente para evaluar la tinción no específica y permitir una mejor interpretación de la tinción específica en la zona del antígeno. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo debe corresponderse con el del anticuerpo primario.



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is above the printed name and title of BIOD. The signature on the right is in blue ink and is above the printed name and title of ALEJANDRO BOGINOVICH.

BIOD
Biod. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, el usuario debe verificar los resultados del ensayo, analizando una serie de tejidos con características de resultados IHQ conocidas que representen tejidos positivos y negativos conocidos. Consulte los procedimientos de control de calidad descritos anteriormente en esta sección del prospecto y los requisitos de control de calidad del Programa de certificación del CAP respecto a la inmunocitoquímica y/o la Quality Assurance for Immunocytochemistry, Approved Guideline (23) del CLSI (anteriormente NCCLS). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpos o siempre que se produzca un cambio en los parámetros de ensayo. Los carcinomas de mama con intensidades de tinción conocidas para la proteína HER2 de 0 a 3+ y los tejidos negativos, p. ej., colon, hígado o tiroide son adecuados para realizar la verificación del ensayo.

Cáncer gástrico

Preparación de las muestras

Las muestras de adenocarcinoma de las biopsias, escisiones o resecciones del estómago, incluida la unión gastroesofágica, deben manipularse correctamente para conservar el tejido para la tinción inmunocitoquímica. Deben utilizarse los métodos estándar de procesamiento de tejidos para todos los especímenes (15). Cuando se analicen muestras pequeñas de biopsia, se determinará con precisión la morfología intacta del tumor y la presencia de células tumorales suficientes para realizar la evaluación mediante ICH. Si el análisis HercepTest™ se realiza en una muestra de biopsia, para garantizar una determinación fiable del estado en cuanto a HER2 se deberán analizar varias (7-8) muestras de biopsia de diferentes regiones del tumor.

Secciones incluidas en parafina

Debe utilizarse tejido conservado en formol tamponado neutro e incluido en parafina. Las muestras deben, por ejemplo, cortarse en bloques de 3 o 4 mm de grosor, y fijarse durante 18–24 horas en formol tamponado neutro. Las muestras de biopsia se fijaron durante 6-8 horas en el ToGA trial (para obtener información sobre el estudio, consulte el punto (36)). Los tejidos se deshidratan en una serie de alcoholes y xileno, y luego se realiza una infiltración con parafina fundida a no menos de 60 °C. Los tejidos correctamente fijados e incluidos que expresan la proteína HER2, se conservarán indefinidamente antes de su corte y montaje en portaobjetos si se almacenan en un sitio fresco (15–25 °C) (15, 16). En



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

EE.UU., la Ley de Mejoras de Laboratorio Clínico de 1988 exige en el apartado 42 CFR 493.1259(b) que “El laboratorio debe conservar los portaobjetos teñidos como mínimo durante diez años a partir de la fecha del análisis y los bloques de espécimen como mínimo durante dos años a partir de la fecha del análisis” (16).

Las muestras de tejido se deben cortar en secciones de 4–5 μm , montar en portaobjetos y dejarlas secar al aire a temperatura ambiente por un mínimo de 12 horas (o hasta que estén secas) o a 37 °C durante toda la noche o a 60 °C durante una hora. CUIDADO: El calentamiento excesivo durante más de una hora a ≥ 60 °C puede causar una disminución significativa o la pérdida de la inmunorreactividad para HER2 asociada a la membrana específica (17).

Para conservar la antigenicidad, los cortes de tejido montados en portaobjetos (portaobjetos SuperFrost Plus, con Poli-L-lysine o silanizados) deben teñirse dentro de un período de 4 a 6 semanas tras ser cortados si se mantienen a temperatura ambiente (20–25 °C) (18). Los portaobjetos necesarios para la evaluación de la proteína HER2 y la verificación de la presencia tumoral deben prepararse simultáneamente. Se recomienda un mínimo de 5 portaobjetos, uno para determinar la presencia de tumores, dos para evaluar la proteína HER2 (uno para la incubación con la proteína anti-HER2 humana de conejo y otro para la incubación con el reactivo de control negativo), y dos de seguridad. Para conservar la antigenicidad, los cortes de tejido, montados en portaobjetos (portaobjetos SuperFrost Plus, con Poli-L-lysine o silanizados) deben teñirse dentro de un período de 4 a 6 semanas tras ser cortados si se mantienen a temperatura ambiente (20–25 °C) (18).

El uso de HercepTest™ en tejidos descalcificados no ha sido validado, por lo que no puede recomendarse.

Consultar la “Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods” (19) de Dako y con las referencias 15 y 16 para más detalles sobre la preparación de muestras.

Tratamiento de los tejidos antes de la tinción

Para un rendimiento óptimo del ensayo, debe utilizarse un método específico de recuperación de epítipo, en tampón citrato a 0,01 mol/L. La Epitope Retrieval Solution se suministra con el kit HercepTest™. Este método implica el calentamiento de los cortes de tejido montados en portaobjetos sumergidos en 0,01 mol/L de tampón citrato (20) en un baño maría calibrado o Dako PT Link (Nº de catálogo PT101 y PT200) a la temperatura necesaria (95–99 °C). Los laboratorios ubicados en altitudes elevadas deben determinar el



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial Nº 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

mejor método de mantener la temperatura necesaria. Se han estudiado otros métodos de recuperación del epítipo que no han dado resultados reproducibles. Una desviación del procedimiento descrito puede alterar los resultados.

Es conveniente preparar los siguientes reactivos antes de realizar la tinción:

Epitope Retrieval Solution

Diluya una cantidad suficiente HercepTest™ Epitope Retrieval Solution a 1:10 utilizando agua destilada o desionizada para el procedimiento de tinción previsto. La solución diluida no utilizada puede utilizarse durante una semana a temperatura ambiente o almacenarse entre 2 y 8 °C durante un mes. Si la solución diluida presenta un aspecto turbio, deséchela. Para más información, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).

Wash Buffer

Diluya una cantidad suficiente de Dako Wash Buffer (nº de catálogo S3006) 1:10 con agua destilada o desionizada. El tampón diluido no utilizado puede utilizarse durante una semana a temperatura ambiente o almacenarse entre 2 y 8 °C durante un mes. Deseche la solución tampón si tiene un aspecto turbio. Para más información, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).

Substrate-Chromogen Solution (DAB)

Prepare la solución sustrato-cromógeno en los frascos rellenables por el usuario añadiendo 25 µL de cromógeno DAB por mL de tampón de sustrato DAB y mézclelo. La solución preparada Substrate-Chromogen Solution (DAB) se mantiene estable aproximadamente unos 5 días si se almacena a entre 2 y 8 °C. Esta solución debe mezclarse minuciosamente antes de su utilización. La calidad de la tinción no se verá afectada por la formación de precipitado en la solución.

El frasco rellenable por el usuario que contiene la solución sustrato-cromógeno mezclada debe definirse en la Dako Automated Link platform antes de su uso. Para más información, consulte la Guía del usuario de su(s) Dako Automated Link platform(s).

NOTA: el color del cromógeno DAB puede variar desde un color claro hasta un color marrón lavanda claro. Esto no afectará a la eficacia de este producto. Realice la dilución de acuerdo con las instrucciones indicadas en este prospecto del envase. La adición excesiva de DAB Chromogen al DAB Buffered Substrate ocasionará el deterioro de la señal positiva.

Contratinción



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the printed text: "BIOQ. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial Nº 7.998". The second signature is in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

El producto final teñido resultante de la reacción de tinción de DAB es insoluble en alcohol y agua. Puede utilizarse Hematoxylin for Automated Link Platforms (nº de catálogo SK308) como contratinción. Los pasos y los tiempos de incubación requeridos han sido preprogramados en el Dako Link software. No es necesaria la preparación del reactivo.

Medio de montaje

Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente. No obstante, el montaje acuoso también resulta aceptable. Se recomiendan los medios de montaje Dako Faramount Aqueous Mounting Medium, Ready-to-use (nº de catálogo S3025) o Dako Glycergel™ Mounting Medium (nº de catálogo C0563) para el montaje acuoso. Licúe Glycergel calentándolo a aproximadamente 40 (±5) °C antes de usar.

Procedimiento de tinción

Notas referentes al procedimiento

El usuario debe leer atentamente estas instrucciones y familiarizarse con todos los componentes e instrumental antes de utilizarlos (véase la sección “Precauciones”).

No deje que los cortes de tejido se sequen en ningún momento durante el procedimiento de tinción. Los cortes de tejido secos pueden mostrar una mayor tinción no específica.

Todos los pasos y los tiempos de incubación requeridos para la eliminación de la parafina, la recuperación del epítipo y la tinción han sido preprogramados en el Dako Link software. Consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s) para obtener información sobre los protocolos de programación y la carga de portaobjetos y reactivos.

Si se interrumpe el procedimiento de tinción, los portaobjetos pueden conservarse en un baño de tampón después de la incubación del anticuerpo primario como máximo una hora a temperatura ambiente (20–25 °C) sin que afecte al rendimiento de la tinción.

Eliminación de la parafina y rehidratación

Antes de la tinción, los portaobjetos con los tejidos deben desparafinarse, para eliminar el medio de inclusión, y rehidratarse. Evite una retirada incompleta de la parafina. Cualquier residuo del medio de inclusión provocaría un aumento de la tinción no específica. Este paso debe realizarse a temperatura ambiente (20–25 °C).

1. Coloque los portaobjetos en un baño de xileno e incúbelos durante 5 (□1) minutos. Cambie los baños y repita una vez.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "BIOQ. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

2. Elimine el exceso de líquido y coloque los portaobjetos en etanol puro durante 3 (□1) minutos. Cambie los baños y repita una vez.
3. Elimine el exceso de líquido y coloque los portaobjetos en etanol al 95% durante 3 (□1) minutos. Cambie los baños y repita una vez.
4. Elimine el exceso de líquido golpeando suavemente los portaobjetos e introdúzcalos en agua destilada o desionizada un mínimo de 30 segundos. Comience el procedimiento de tinción como se indicó en la sección protocolo de tinción en Recuperación del epítipo.

Las soluciones de xileno y alcohol deben cambiarse después de 40 portaobjetos. Pueden utilizarse sustitutos del tolueno y del xileno, como Histoclear.

NOTA: los reactivos y las instrucciones suministradas en este kit han sido diseñados para una eficacia óptima. Una mayor dilución de los reactivos o la alteración de las temperaturas de incubación puede conducir a resultados erróneos o discordantes. Las diferencias en el procesamiento de tejidos y los procedimientos técnicos en el laboratorio del usuario pueden invalidar los resultados del ensayo para su utilización en la selección de pacientes para la terapia de Herceptin™.

Protocolo de tinción

Todos los pasos y los tiempos de incubación requeridos para la recuperación del epítipo y la tinción han sido preprogramados en el Automated Link platforms software. Tras la eliminación de la parafina y la rehidratación, y recuperación del epítipo, el instrumento procesará los portaobjetos tal como se describe a continuación.

Paso 1: Recuperación de epítipo

Llene los tanques del módulo Dako PT o el recipiente de tinción, por ejemplo recipientes de Coplin, con Epitope Retrieval Solution (consulte la sección Preparación de los reactivos). Para el Dako PT Link (Nº de catálogo PT101 y PT200): Precaliente la solución Epitope Retrieval Solution diluida en el tanque Dako PT Link a 85 °C. La Epitope Retrieval Solution adquiere un aspecto turbio al calentarla. Coloque los cortes desparafinizados a temperatura ambiente en las gradillas del Autostainer y sumerja los portaobjetos en la solución Epitope Retrieval Solution precalentada. Deje que el Dako PT Link se caliente hasta 97 °C e incube durante 40 (□1) minutos a 97 °C. Deje que los cortes se enfríen en el Dako PT Link hasta que la temperatura alcance 85 °C. Retire los tanques PT Link con los cortes del Dako PT Link. Deje los tanques en la mesa durante 10 minutos con la tapa quitada para conseguir



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

un mayor enfriamiento. Enjuague los cortes con tampón de lavado. Para más información, consulte la Guía del usuario del Dako PT Link.

Para los recipientes de Coplin: Coloque los recipientes de tinción con la Epitope Retrieval Solution diluida en un baño de agua. Caliente el baño de agua y la Epitope Retrieval Solution a 95–99 °C. La Epitope Retrieval Solution adquiere un aspecto turbio al calentarla. Tape los recipientes para estabilizar la temperatura y evitar la evaporación. Sumerja los cortes desparafinados a temperatura ambiente en la Epitope Retrieval Solution precalentada de los recipientes de tinción. Lleve la temperatura del baño de agua y la Epitope Retrieval Solution hasta 95–99 °C. Incube durante 40 (□1) minutos a 95–99 °C. Saque la jarra entera con los portaobjetos del baño de agua. Deje que los portaobjetos se enfríen en la Epitope Retrieval Solution durante 20 (□1) minutos a temperatura ambiente. Traslase la Epitope Retrieval Solution y enjuague los cortes en el tampón de lavado.

Para un rendimiento óptimo, sumerja los cortes en tampón de lavado durante 5–20 minutos después de la recuperación del epítipo y antes de la tinción.

NOTA: la Epitope Retrieval Solution está pensada para una aplicación de un solo uso. No la reutilice.

Paso 2: Procedimiento de tinción

Tras la recuperación del epítipo, los portaobjetos situados en las gradillas del instrumento se sacarán de los depósitos de inmersión y se colocarán en las Dako Automated Link platforms. El instrumento realizará el proceso de tinción aplicando el reactivo apropiado, monitorizando el tiempo de incubación y enjuagando los portaobjetos entre reactivos. Los tiempos de incubación de los reactivos han sido preprogramados en el Dako Link software.

Paso 3: Contratinción

Los portaobjetos pueden contratarse con Hematoxylin for Automated Link Platforms (nº de catálogo SK308). Existen dos protocolos en el Dako software. Uno de ellos comprende una contratinción con hematoxilina y el otro no. El tiempo de incubación de la hematoxilina está preprogramado en el protocolo que comprende la contratinción. Para más información acerca de los protocolos de programación, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).

Paso 4: Montaje

Se recomienda un medio de montaje no acuoso y permanente. De todas formas, un medio de montaje acuoso también resulta aceptable. Las muestras pueden montarse y cubrirse



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the printed text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

con un medio de montaje con base de agua, como Dako Faramount (nº de catálogo S3025) o Dako Glycergel™ (nº de catálogo C0563).

NOTA: los portaobjetos pueden leerse cuando resulte apropiado. No obstante, puede que se pierda el color si los portaobjetos se cubren con un medio de montaje acuoso y se exponen a una luz intensa durante una semana. Para minimizar la pérdida de tinte, almacene los portaobjetos en un lugar oscuro a temperatura ambiente (20–25 °C).

Control de calidad

Las diferencias en la fijación, el procesamiento y la inclusión de tejidos en el laboratorio del usuario pueden generar una variabilidad significativa de los resultados, lo que requeriría un rendimiento regular de los controles internos además de los portaobjetos de control suministrados por Dako. En los Estados Unidos deben consultarse las pautas de control de calidad del College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry, además del CLSI (anteriormente NCCLS) Quality Assurance for Immunocytochemistry, Approved Guideline (23), y la referencia 24 para obtener información adicional.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 8: Propósito del control de calidad diario.

<i>Tejido: muestra equivalente a paciente fijada y procesada</i>	<i>Anticuerpo específico y sistema de detección</i>	<i>Anticuerpo inespecífico* o tampón y el mismo sistema de detección utilizado con el anticuerpo específico</i>
Control positivo: El tejido o las células que contengan el antígeno objetivo que deba detectarse (puede estar situado en el tejido del paciente). El control ideal es un tejido con una tinción ligeramente positiva, ya que de este modo es más sensible a la degradación del anticuerpo o el antígeno.	Controla todos los pasos del análisis. Valida el reactivo y los procedimientos utilizados para la tinción de la proteína HER2.	Detección de tinción de fondo no específica.
Control negativo: Tejidos o células que se prevén negativos (pueden estar situados en el tejido del paciente o el tejido de control positivo)	Detección de reactividad cruzada no buscada del anticuerpo con las células o componentes celulares.	Detección de tinción de fondo no específica.
Tejido de paciente	Detección de tinción específica	Detección de tinción de fondo no específica.
Portaobjeto de control suministrado por Dako	Controla solamente el procedimiento de tinción	

* El suero es de la misma especie que el anticuerpo específico, pero no va dirigido al mismo antígeno objetivo. El suero es de la misma especie que el anticuerpo específico, pero no va dirigido al mismo antígeno objetivo. Para detectar un ligamiento de anticuerpo no específico, por ejemplo, ligamiento de la porción Fc del anticuerpo al tejido.

Portaobjetos de control (suministrados)

Cada uno de los portaobjetos de control contiene tres líneas celulares con cáncer de mama humano en pellet, incluidas en parafina y fijadas en formol con unas puntuaciones de intensidad de tinción de 0, 1+ y 3+. En cada secuencia de tinción debe teñirse sólo un portaobjeto. La evaluación de las líneas celulares del portaobjeto de control suministrado por Dako indica la validez de la secuencia de tinción.

Tejidos de control positivo

Los controles deben ser especímenes procedentes de autopsia, biopsia o quirúrgicos fijados, procesados e incluidos tan rápido como sea posible de la misma forma que las muestras de pacientes. Los controles de tejido positivos indican si los tejidos se han preparado correctamente y si se han utilizado las técnicas de tinción oportunas. Debe incluirse un tejido de control positivo para cada conjunto de condiciones de prueba en cada secuencia de tinción.



BIOQ. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Los tejidos de control positivo deben mostrar una tinción positiva débil para que puedan detectar cambios leves en la sensibilidad del anticuerpo primario. Los portaobjetos de control suministrados con este kit o los especímenes procesados de forma diferente de la(s) muestra(s) del paciente validan sólo el rendimiento del reactivo y no verifican la preparación del tejido. Utilice la proteína HER2 2+ determinada con anterioridad que sobreexpresa tejido de adenocarcinoma de estómago, incluida la unión gastroesofágica, para un control de tejido positivo óptimo.

NOTA: el tejido de control positivo conocido sólo debe utilizarse para realizar el seguimiento del rendimiento correcto de los tejidos procesados y los reactivos de la prueba y NO como una ayuda para formular un diagnóstico específico de las muestras de paciente. Si el tejido de control positivo no consigue demostrar una tinción positiva apropiada, los resultados de los especímenes de paciente deberán considerarse inválidos.

Tejidos de control negativo

Utilice un tejido de control negativo (que se haya demostrado negativo para la proteína HER2) fijado, procesado e incluido de idéntica forma a la muestra o las muestras de paciente de cada secuencia de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario y ofrecer una indicación de una tinción de fondo específica. El colon, el hígado o el tiroides son apropiados como tejido de control negativo. La variedad de tipos celulares diferentes presentes en la mayoría de cortes de tejido ofrece puntos de control negativo internos (debe verificarlo el usuario).

Si se produce tinción específica en el tejido de control negativo, los resultados de la muestra del paciente deben considerarse no válidos y debe repetirse la prueba.

Para más información acerca de la programación de los portaobjetos de control, consulte la guía del usuario de su Dako Automated Link platform(s).

Reactivo de control negativo inespecífico

Utilice el reactivo de control negativo suministrado en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada espécimen de paciente para evaluar la tinción no específica y permitir una mejor interpretación de la tinción específica en la zona del antígeno. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo debe corresponderse con el del anticuerpo primario.

Verificación del ensayo



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the printed text: "Bco. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

Antes del uso inicial de un sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, el usuario debe verificar los resultados del ensayo, analizando una serie de tejidos con características de resultados IHQ conocidas que representen tejidos positivos y negativos conocidos. Consulte los procedimientos de control de calidad descritos anteriormente en esta sección del prospecto y los requisitos de control de calidad del Programa de certificación del CAP respecto a la inmunocitoquímica y/o la Quality Assurance for Immunocytochemistry, Approved Guideline (23) del CLSI (anteriormente NCCLS). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpos o siempre que se produzca un cambio en los parámetros de ensayo. Los adenocarcinomas de estómago, incluida la unión gastroesofágica, con intensidades demostradas de tinción de la proteína HER2 de entre 0 y 3+ y los tejidos negativos, como el colon, el hígado o la tiroides, son válidos para la verificación del ensayo.

Tabla 9. Interpretación y puntuación de la tinción inmunohistoquímica de HER2

Puntuación	Muestras quirúrgicas – Patrón de tinción	Muestras de biopsia – Patrón de tinción	Evaluación de la sobreexpresión de HER2
0	Sin reactividad o reactividad membranosa en <10% de las células tumorales	Sin reactividad o sin reactividad membranosa en ninguna (o < 5 en grupo) de las células tumorales	Negativa
1+	Reactividad membranosa débil o prácticamente imperceptible en ≥10% de las células tumorales; las células son reactivas sólo en parte de su membrana	Grupos de células tumorales (≥ 5 células) con una reactividad membranosa débil o prácticamente imperceptible con independencia del porcentaje de células tumorales teñidas	Negativa
2+	Reactividad membranosa completa, basolateral o lateral de débil a moderada en ≥10% de las células tumorales	Grupos de células tumorales (≥ 5 células) con una reactividad membranosa completa, basolateral o lateral de débil a moderada con independencia del porcentaje de células tumorales teñidas	Ambigua
3+	Reactividad membranosa completa, basolateral o lateral fuerte en ≥10% de las células tumorales	Grupos de células tumorales (≥ 5 células) con una reactividad membranosa completa, basolateral o lateral fuerte con independencia del porcentaje de células tumorales teñidas	Positivo

HercepTest™ se interpreta para la sobreexpresión de la proteína HER2 como negativo (con puntuación 0 y 1+), ambiguo (con puntuación 2+) y positivo (con puntuación 3+). HercepTest™ no está pensado para ofrecer información de pronóstico a los pacientes y médicos y no se ha validado a este efecto.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Para cada secuencia de tinción, deben examinarse los portaobjetos del modo presentado en la tabla 10 para determinar la validez de la secuencia de tinción y permitir una evaluación semicuantitativa de la intensidad de tinción del tejido muestra.

Tabla 10: Orden de evaluación de los portaobjetos.

<i>Orden de lectura de los portaobjetos</i>	<i>Exposición de motivos</i>
1. Portaobjetos de control con tres líneas celulares Portaobjetos de control con tres líneas celulares	La presencia de tinción marrón de la membrana de las células 3+ (reborde) en la línea de células de control 3+ SK-BR-3, reborde marrón parcial en la línea de células de control 1+ MDA-175, y ninguna tinción en la línea de células de control 0 MDA-231, indican que el ensayo es válido. Se observa tinción de membrana punteada y discontinua en un número de pequeño a moderado de las células de la línea de células de control 1+ MDA-175, así como una inmunotinción punteada de la región de Golgi del citoplasma en esta misma línea de células. La presencia de tinción marrón en la línea celular de control 0 MDA-231 (negativa para la tinción de la proteína HER2) indica que no se produjo tinción no específica durante el ensayo. Los resultados del ensayo pueden no ser válidos a causa de una sobretinción.
2. Portaobjetos de tejido de control positivo	Debe observarse presencia de tinción marrón en la membrana. La tinción del citoplasma y los tejidos negativos no debe superar 1+.
3. Portaobjetos de tejido de control negativo	La AUSENCIA de tinción específica en el portaobjeto de tejido de control negativo confirma la inexistencia de reactividad cruzada del kit con las células o los componentes celulares. Si se produce tinción específica de la membrana en el portaobjetos del tejido de control negativo, los resultados de la muestra del paciente deben considerarse no válidos.
4. Portaobjetos con tejido de paciente teñido con reactivo de control negativo	La ausencia de tinción específica de la membrana verifica el marcado específico del antígeno diana por el anticuerpo primario. Cualquier otro tono o tinción marrón que se produzca en el citoplasma de la muestra tratada con el reactivo de control negativo, tal como en tejido conectivo, leucocitos, eritrocitos o tejido necrótico, deberá considerarse como tinción de fondo inespecífica y deberá documentarse en la sección de comentarios de la hoja de datos.
5. Portaobjetos con tejido de paciente teñido utilizando el anticuerpo primario	Cuando se detecta sobreexpresión de la proteína HER2 en la muestra, su aspecto es el de un reborde marrón localizado en la membrana de las células tumorales tratadas con el anticuerpo primario.

1. Portaobjeto de control (suministrado): el portaobjeto de control teñido con HercepTest™ debe examinarse en primer lugar para determinar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción marrón (3,3'-diaminobenzidina, DAB) en la membrana celular indica una reactividad positiva.

La presencia de tinción marrón en circunferencia en la membrana celular (desoxidación) en la línea celular de control 3+ SK-BR-3, desoxidación marrón parcial en la línea celular de control 1+ MDA-175 y la ausencia de tinción en la línea celular de control 0 MDA-231 indican la validez del ensayo. Si alguna de las líneas celulares de control muestran



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

comportamientos diferentes a los señalados, todos los resultados de los especímenes de pacientes deberán considerarse inválidos.

2. Tejido de control positivo: el portaobjeto del tejido de control positivo deberá examinarse a continuación. Este portaobjeto verifica que el método de fijación y el proceso de recuperación de epítipo son efectivos. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de tinción, puesto que las células necróticas o degeneradas a menudo muestran tinción no específica (25). La tinción debe observarse en el tejido tumoral como una tinción marrón en la membrana celular. La tinción marrón del citoplasma y los tejidos negativos del espécimen no debe superar la puntuación de intensidad de tinción de 1+ correspondiente.

3. Tejido de control negativo: el portaobjetos de tejido de control negativo debe ser examinado contra el tejido de control positivo para verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el tejido de control negativo confirma la inexistencia de reactividad cruzada del kit con las células o los componentes celulares. Si se produce tinción específica en el tejido de control negativo, los resultados del espécimen del paciente deben considerarse inválidos. De forma alternativa, las porciones negativas del tejido de control positivo pueden funcionar igual que el tejido de control negativo, aunque debe verificarlo el usuario. Tenga en cuenta que en la mayoría de tejidos epiteliales normales puede observarse una reacción débil (intensidad de tinción de 0 a 1+). Los posibles tejidos de control negativo incluyen: colon, hígado y tiroides.

La tinción no específica, en su caso, tendrá una apariencia difusa. También es posible que se observe una tinción esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejido excesivamente fijados con formol.

4 + 5. Tejido de paciente: examine en último lugar los especímenes de pacientes teñidos con HercepTest™ . Debe evaluarse la intensidad de tinción positiva dentro del contexto de una tinción de fondo no específica del reactivo de control negativo. Igual que con cualquier prueba inmunocitoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, y no que esté ausente de las células o el tejido sometido a ensayo. Consulte los apartados Resumen y explicación, Limitaciones y Características de rendimiento para obtener información específica respecto a la inmunorreactividad de HercepTest™.

Recomendaciones adicionales para la interpretación de la tinción con HercepTest™

Los adenocarcinomas de estómago, incluida la unión gastroesofágica analizados para la sobreexpresión de la proteína HER2 se puntúan de 0 a 3+. Aunque los casos 0 y 3+ están



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "BIOQ. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

perfectamente definidos, un pequeño porcentaje de las muestras 1+ y 2+ restantes pueden resultar más difíciles de interpretar. Utilice las siguientes indicaciones para la interpretación de la tinción de HercepTest™ en su laboratorio.

1. Evalúe las líneas celulares de control para validar el rendimiento del ensayo.
2. Evalúe los portaobjetos de control negativo y positivo.
3. Se recomienda una tinción de hematoxilina y eosina del espécimen del tejido para la primera evaluación. (Puede que el tumor no parezca evidente al observar la muestra teñida con HercepTest™. Se requiere un portaobjeto teñido con hematoxilina y eosina para que el patólogo pueda verificar la presencia del tumor). El HercepTest™ debe realizarse en dos cortes (cortes en serie) procedente del mismo bloque de parafina de la muestra.
4. Evalúe en primer lugar los cortes teñidos para la sobreexpresión de la proteína HER2 a baja potencia. La mayoría de casos positivos serán evidentes con aumento a baja potencia.
5. Para los casos 1+, utilice un objetivo de 40x aumentos para verificar la tinción de la membrana.
6. Para los casos 2+, utilice un objetivo de 10 a 20x aumentos para verificar la tinción de la membrana.

Muestras quirúrgicas

1. Las áreas conservadas y teñidas correctamente de la muestra deben utilizarse para realizar una determinación del porcentaje de células tumorales positivas.
2. Si la mayoría de las células tumorales muestran una tinción completa, basolateral o lateral de la membrana, la tinción será 2+ o 3+.
3. Si hay una tinción completa, basolateral, lateral de la membrana de intensidad fuerte en el 10% o más de las células tumorales de las muestras quirúrgicas, la puntuación de la muestra será 3+.
4. Si hay una tinción completa, basolateral o lateral de la membrana de intensidad débil a moderada en el 10% o más de las células tumorales de las muestras quirúrgicas, la puntuación de la muestra será 2+.
5. Si el 10 % o más de las células tumorales de las muestras quirúrgicas, con tinción sólo en parte de la membrana, tienen una intensidad débil o prácticamente imperceptible, la puntuación de la muestra será de 1+.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

6. Si menos del 10% de las células tumorales de las muestras quirúrgicas presentan tinción, independientemente del patrón de tinción (p. ej. completa, basolateral o lateral o en parte de la membrana), la puntuación será 0.

7. Si no se observa tinción alguna la muestra quirúrgica es 0.

Muestras de biopsia

1. Un grupo de al menos 5 células tumorales teñidas consta de 5 células tumorales conectadas teñidas para HER2.

2. Si hay un grupo de células tumorales de al menos 5 células tumorales teñidas con una intensidad de la membrana completa, basolateral o lateral fuerte, la puntuación de la muestra de biopsia es 3+, con independencia del porcentaje de células tumorales teñidas.

3. Si hay un grupo de células tumorales de al menos 5 células tumorales teñidas con una intensidad de la membrana completa, basolateral o lateral de débil a moderada, la puntuación de la muestra de biopsia es 2+, con independencia del porcentaje de células tumorales teñidas.

4. Si hay un grupo de células tumorales de al menos 5 células tumorales teñidas con una tinción de la membrana débil o prácticamente imperceptible y las células sólo están teñidas en parte de la membrana, la puntuación de la muestra de biopsia es 1+, con independencia del porcentaje de células tumorales teñidas.

5. Si no se observa tinción alguna la puntuación de la muestra de biopsia es 0.

6. Si se observa una tinción de la membrana (independientemente de la intensidad) en menos de 5 células tumorales agrupadas, la puntuación de la muestra de biopsia es 0.

9. Instrucciones de uso modelos 66 a 91

Preparación de las muestras

Cortes de parafina: El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de 4 µm. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos de vidrio, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides, n.º de catálogo K8020.

Procedimiento de tinción

La desparafinización, la recuperación antigénica, la tinción inmunohistoquímica y la contratinción se realizan en el instrumento Dako Omnis. Los pasos de tinción y los tiempos de incubación se han preprogramado en el software Dako Omnis. Si el protocolo no está



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

disponible en el sistema Dako Omnis, se puede descargar de Dako Omnis Protocol Update en www.dako.com. Consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis para obtener instrucciones detalladas sobre la carga de portaobjetos y reactivos.

Dako Omnis garantiza que los cortes de tejidos no se secan durante el proceso de pretratamiento ni durante el posterior procedimiento de tinción inmunohistoquímica.

Pretratamiento: La desparafinización de los cortes de tejido FFPE se realiza con Clearify, n.º de catálogo GC810. Se recomienda realizar la recuperación antigénica con recuperación del epítipo inducida por calor (HIER) utilizando una dilución de EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), n.º de catálogo GV804.

Visualización: El sistema de visualización recomendado es EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), n.º de catálogo GV800.

Contratinción: La contratinción recomendada es Hematoxylin (Dako Omnis), n.º de catálogo GC808.

Montaje: Después de la tinción en el instrumento Dako Omnis, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un método de montaje permanente.

Control de calidad

Los tejidos de control positivo y negativo, así como el reactivo de control negativo, deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir la hiperplasia de mama y la piel y las células/estructuras deben mostrar patrones de reacción como se describe para este tejido en la sección "Características de resultados". El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Omnis), n.º de catálogo GA750.

10. Instrucciones de uso modelo 92

Cáncer de mama

A. Preparación de los reactivos

Mama

Es conveniente preparar los siguientes reactivos antes de proceder con la tinción:

A.1 Solución de pretratamiento

Es posible que aparezcan cristales en el Vial 1, pero, a temperatura ambiente, se disuelven.

Asegúrese de que no haya cristales antes de la preparación del reactivo.



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the printed text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

Diluya una cantidad suficiente del Vial 1 (solución de pretratamiento 20x) diluyendo el concentrado 1:20 en agua destilada o desionizada. La solución diluida sin usar puede almacenarse a 2–8 °C durante un mes. Deseche la solución diluida si está turbia.

A.2 Tampón de lavado astringente

Diluya una cantidad suficiente del Vial 4 (Tampón de lavado astringente 20x) diluyendo el concentrado 1:20 en agua destilada o desionizada. El tampón diluido sin usar puede almacenarse a 2–8 °C durante un mes. Si el tampón diluido presenta un aspecto turbio, deséchelo.

A.3 Tampón de lavado

Diluya una cantidad suficiente del Vial 6 (Tampón de lavado 20x) diluyendo el concentrado al 1:20 en agua destilada o desionizada. El tampón diluido sin usar puede almacenarse a 2–8 °C durante un mes. Si el tampón diluido presenta un aspecto turbio, deséchelo.

A.4 Serie de etanol

A partir de una solución de etanol al 96%, prepare 3 recipientes con etanol al 70%, 85% y 96%, respectivamente. Almacene los recipientes tapados a temperatura ambiente o a una temperatura de 2–8 °C, y utilícelos con un máximo de 200 portaobjetos. Si las soluciones presentan un aspecto turbio, deséchelas.

A.5. Solución de pepsina

Solo se necesita una solución de pepsina cuando se usa el método de inmersión en pepsina (Método C).

Prepare la solución de pepsina como sigue;

Para un recipiente con una capacidad de seis portaobjetos prepare 60 mL de solución de pepsina:

Añada 48 mL de agua destilada o desionizada (20–25 °C) al recipiente.

Añada 6 mL de diluyente de pepsina frío (2–8 °C) (10x) (Vial 2B) al recipiente.

Añada 6 mL de pepsina fría (2–8 °C) (Vial 2A) al recipiente.

Coloque la tapa del recipiente y equilibre la solución de pepsina a 37 (±2) °C en un baño de agua.

Para un recipiente con una capacidad de 24 portaobjetos, prepare 240 mL de solución de pepsina:

Añada 192 mL de agua destilada o desionizada a temperatura ambiente (20–25 °C) al recipiente.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Añada 24 mL de diluyente de pepsina frío (2–8 °C) (10x) (Vial 2B) al recipiente.

Añada 24 mL de pepsina fría (2–8 °C) (Vial 2A) al recipiente.

Coloque la tapa del recipiente y equilibre la solución de pepsina a 37 (\pm 2) °C en un baño de agua.

La solución de pepsina equilibrada se debe usar dentro de las 5 horas siguientes.

B. Procedimiento de tinción

Mama

B.1 Notas sobre el procedimiento

El usuario debe leer detenidamente estas instrucciones y familiarizarse con todos los componentes antes de su uso (consulte la Sección Precauciones).

Todos los reactivos deben equilibrarse a la temperatura ambiente antes de su uso, de la manera descrita a continuación:

Vial 1: La solución de pretratamiento diluida debe equilibrarse a 95–99 °C si se utiliza un baño de agua para el pretratamiento (B3. Protocolo de tinción, Paso 1: Pretratamiento, método A). Si se utiliza un microondas con capacidad de detección para el pretratamiento (B3. Protocolo de tinción, Paso 1: Pretratamiento, Método B). La solución de pretratamiento diluida debe equilibrarse a la temperatura ambiente de 20–25 °C.

Vial 2A: La pepsina debe aplicarse a 2–8 °C (B3, Protocolo de tinción, Paso 2: Método A. y B) y mantenerse fría en todo momento.

Vial 2B: El diluyente de pepsina (10x) debe aplicarse a 2–8 °C (B3, Protocolo de tinción, Paso 2: Método C).

Vial 3: La mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH se separa en dos fases cuando se conserva a -18 °C. Antes de utilizar el Vial 3, asegúrese de que sólo haya una fase, equilibrando la mezcla de sondas a temperatura ambiente (20–25 °C) seguido de la mezcla. Descongele el Vial 3 a temperatura ambiente (20–25 °C) durante un máximo de 30 minutos (protéjalo de fuentes de luz intensas) y luego mezcle bien en remolino el vial durante 15 segundos a 2500 rpm usando un mezclador vórtex. Guarde el Vial 3 a -18 °C inmediatamente después de usarlo.

Vial 4: tampón de lavado astringente diluido; uno de los recipientes debe equilibrarse a temperatura ambiente, y el otro recipiente a 63 (\pm 2) °C antes de su uso.

Vial 5: El medio de montaje fluorescente puede aplicarse a cualquier temperatura de 2 a 25 °C.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Vial 6: El tampón de lavado diluido debe equilibrarse a temperatura ambiente 20–25 °C.

El sellador de cubreobjetos puede aplicarse a cualquier temperatura en el rango 2–25 °C.

Todos los pasos deben llevarse a cabo a las temperaturas indicadas.

El procedimiento incluye una serie de deshidrataciones, seguidas del secado de los cortes de tejido. Asegúrese de que los cortes de tejido estén completamente secos antes de continuar con el paso siguiente. No permita que los cortes de tejido se sequen durante los demás pasos del procedimiento.

Si tiene que interrumpir el procedimiento de tinción, puede conservar los portaobjetos en el tampón de lavado tras el paso de desparafinado durante un máximo de 1 hora a temperatura ambiente (20–25 °C) sin que esto afecte a los resultados.

B.2 Tratamiento de los tejidos antes de la tinción

Eliminación de la parafina y rehidratación: Antes de llevar a cabo el análisis, debe eliminar la parafina de los portaobjetos de tejido para eliminar el medio de inclusión y rehidratarlos. Trate de no dejar restos de parafina. Cualquier residuo del medio de inclusión provocaría un aumento de la tinción no específica. Este paso debe realizarse a temperatura ambiente (20–25 °C).

1. Coloque los portaobjetos en un baño de xileno e incube durante 5 (\pm 1) minutos. Cambie los baños y repita el paso una vez.

2. Golpee suavemente para eliminar el exceso de líquido e introduzca los portaobjetos en etanol al 96% durante 2 (\pm 1) minutos. Cambie los baños y repita el paso una vez.

3. Golpee suavemente para eliminar el exceso de líquido e introduzca los portaobjetos en etanol al 70% durante 2 (\pm 1) minutos. Cambie los baños y repita el paso una vez.

4. Golpee suavemente para eliminar el exceso de líquido e introduzca los portaobjetos en el tampón de lavado diluido (consulte INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.3) durante un mínimo de 2 minutos. Inicie el procedimiento de tinción de la forma descrita en la Sección B.3, Paso 1, Pretratamiento.

Cambie las soluciones de xileno y de alcohol después de cada 200 portaobjetos o menos.

Puede utilizar sustitutos del xileno.

NOTA: Los reactivos y las instrucciones suministrados con este kit se han diseñado para obtener resultados óptimos. Una mayor dilución de los reactivos o la modificación de las temperaturas de incubación pueden producir resultados erróneos o discordantes. Cualquier



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

diferencia en el procesamiento del tejido y en los procedimientos técnicos que el usuario llevase a cabo en su laboratorio podría invalidar los resultados del ensayo.

B.3 Protocolo de tinción

Paso 1: Pretratamiento

El pretratamiento se puede realizar o bien mediante un baño de agua, según lo descrito en el método A) o, alternativamente, utilizando un microondas con capacidad de detección, según lo descrito en el método B).

Método A: Pretratamiento mediante baño de agua

Llene los recipientes, por ejemplo, recipientes de Coplin, con la solución de pretratamiento diluida (consulte las INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.1). Coloque los recipientes de tinción con la solución de pretratamiento diluido en un baño de agua. Caliente el baño de agua y la solución de pretratamiento a 95–99 °C. Mida la temperatura del interior de los recipientes con un termómetro calibrado a fin de mantener la temperatura correcta. Tape los recipientes a fin de estabilizar la temperatura y evitar la evaporación.

Sumerja los cortes desparafinados a temperatura ambiente en la solución de pretratamiento precalentada en los recipientes de tinción. Vuelva a comprobar la temperatura e incube durante 10 (± 1) minutos a 95–99 °C.

Retire del baño de agua el recipiente completo con los portaobjetos. Retire la tapa y deje que los portaobjetos se enfríen en la solución de pretratamiento durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Introduzca los portaobjetos en un recipiente que contenga tampón de lavado diluido (consulte las INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.3) durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más.

NOTA: La solución de pretratamiento está diseñada para aplicarla una sola vez. No reutilizar.

Método B: Pretratamiento utilizando un microondas con capacidad de detección

Rellene un recipiente de plástico con solución de pretratamiento diluida a temperatura ambiente (20–25 °C). Sumerja los cortes desparafinados en la solución de pretratamiento, cubra el recipiente con una tapa perforada y colóquelo en el horno microondas. Seleccione la función de detección de ebullición y un programa que funcione 10 minutos tras haber alcanzado la temperatura de ebullición*.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

Tras los 10 minutos de incubación, saque del microondas el recipiente con los portaobjetos, retire la tapa y deje enfriar durante 15 minutos a temperatura ambiente. Transfiera los portaobjetos a un recipiente con tampón de lavado diluido y déjelos a remojo durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C). Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más.

* El uso de un horno microondas con capacidades de detección significa que el horno debe contar con un sensor y programas que calienten inicialmente la solución de pretratamiento hasta el punto de ebullición y mantengan posteriormente la temperatura de pretratamiento necesaria (por encima de los 95 °C) mientras realiza una cuenta atrás del tiempo preseleccionado (10 (±1) minutos). Es posible que algunos microondas con capacidad de detección no incluyan la posibilidad de fijar libremente una cuenta atrás. Si el modelo sólo incluye programas predefinidos, asegúrese de seleccionar un programa que mantenga la temperatura de pretratamiento necesaria (por encima de 95 °C) durante al menos 10 (±1) minutos y detenga manualmente el programa transcurridos 10 (±1) minutos.

NOTA: La solución de pretratamiento se ha diseñado para un solo uso. No reutilizar.

Paso 2: Pepsina, lista para su uso (RTU) o solución de pepsina

La incubación en pepsina se puede realizar aplicando directamente gotas de pepsina RTU en los portaobjetos a temperatura ambiente (20–25 °C) (Método A) o a 37 °C (Método B). O bien, puede sumergir los portaobjetos en una solución de pepsina e incubarlos a 37 (±2) °C (Método C).

Método A y Método B:

Golpee suavemente para eliminar el exceso de tampón. Utilizando un paño sin pelusa (por ejemplo, un paño absorbente o almohadillas de gasa), frote con cuidado alrededor de la muestra a fin de eliminar cualquier resto de líquido y de mantener los reactivos dentro del área prescrita.

Aplique 5–8 gotas (250 µL) de pepsina fría (2–8 °C) (Vial 2A) para cubrir la muestra. Almacene siempre la pepsina a 2–8 °C.

Método A: Pepsina, RTU - Incubación a 20–25 °C

Incube durante 5–15 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C). Un tiempo de incubación de 5–15 minutos es adecuado para la mayoría de las muestras, aunque el tiempo óptimo de incubación puede depender de la fijación del tejido y/o del grosor de la muestra y debe ser determinado por el usuario.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Golpee suavemente para eliminar cualquier resto de pepsina y empape los cortes en tampón de lavado diluido (consulte INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.3) durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado diluido y empape los cortes durante 3 minutos más. Continúe hasta la deshidratación.

Método B: Pepsina, RTU - Incubación a 37 °C

Coloque la muestra con pepsina en un bloque calefactor a 37 °C (p. ej. Dako Hybridizer) e incube durante 3–5 minutos. Un tiempo de incubación de 3–5 minutos es adecuado para la mayoría de las muestras, aunque el tiempo óptimo de incubación puede depender de la fijación del tejido y/o del grosor de la muestra y debe ser determinado por el usuario.

Golpee suavemente para eliminar el exceso de pepsina y sumerja los cortes en tampón de lavado diluido durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más. Continúe hasta la deshidratación.

Deshidrate los cortes de tejido mediante una serie graduada de etanol: 2 minutos en etanol al 70%, 2 minutos en etanol al 85%, y 2 minutos en etanol al 96%.

Deje que los cortes de tejido se sequen al aire completamente.

Método C: Solución de pepsina - Inmersión de los portaobjetos en una solución de pepsina a 37 °C

El kit contiene suficientes reactivos para cuatro ciclos separados (60 mL de solución de pepsina, recipiente pequeño para seis portaobjetos) o un único ciclo (240 mL de solución de pepsina, recipiente grande para 24 portaobjetos). Prepare la solución de pepsina de la forma descrita en la Sección A.5.

Coloque la tapa del recipiente y equilibre la solución de pepsina a 37 (± 2) °C en un baño de agua. Asegúrese de que la temperatura se haya estabilizado. Mida la temperatura del interior del recipiente con un termómetro calibrado a fin de mantener la temperatura correcta.

Golpee suavemente para eliminar el exceso de tampón de lavado. Sumerja los portaobjetos en la solución de pepsina a 37 (± 2) °C e incube durante 20–30 minutos. Un tiempo de incubación de 20–30 minutos es adecuado para la mayoría de las muestras, aunque el tiempo óptimo de incubación puede depender de la fijación del tejido y/o del grosor de la muestra y debe ser determinado por el usuario.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Golpee suavemente para eliminar el exceso de solución de pepsina y sumerja los cortes en tampón de lavado diluido durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más. Continúe hasta la deshidratación.

Deshidrate los cortes de tejido mediante una serie graduada de etanol: 2 minutos en etanol al 70%, 2 minutos en etanol al 85%, y 2 minutos en etanol al 96%.

Deje que los cortes de tejido se sequen al aire completamente.

Paso 3: Mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH

La mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH se separa en dos fases cuando se conserva a -18 °C. Antes de utilizar el Vial 3, asegúrese de que sólo haya una fase, equilibrando la mezcla de sondas a temperatura ambiente (20–25 °C) seguido de la mezcla. Descongele el Vial 3 a temperatura ambiente (20–25 °C) durante un máximo de 30 minutos (protéjalo de fuentes de luz intensas) y luego mezcle bien en remolino el vial durante 15 segundos a 2500 rpm usando un mezclador vórtex. Guarde el Vial 3 a -18 °C inmediatamente después de usarlo. Aplique 10 µL de la mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH (Vial 3) en el centro del corte de tejido. Coloque inmediatamente un cubreobjetos de vidrio de 22 x 22 mm sobre la mezcla de sondas y deje que ésta se distribuya uniformemente debajo del cubreobjetos. Evite la formación de burbujas de aire. Si observa burbujas de aire, golpee suavemente con unas pinzas para retirarlas del tejido.

Recuerde guardar el Vial 3 a -18 °C inmediatamente después de usarlo.

Selle el cubreobjetos con el sellador de cubreobjetos, extendiendo el sellador alrededor de la periferia del cubreobjetos. Deje que el sellador de cubreobjetos se superponga al cubreobjetos y al portaobjetos; así se formará un sello alrededor del cubreobjetos. Asegúrese de que el sellador de cubreobjetos cubra todo el borde del cubreobjetos.

Prepare Dako Hybridizer* (nº de catálogo S2450 o S2451) para un ciclo de hibridación. Asegúrese de que las Humidity Control Strips (nº de catálogo S2452) estén saturadas y en estado óptimo para su utilización. Inicie el Hybridizer y seleccione un programa que:

Desnaturalice a 66 °C durante 10 minutos seguido de una hibridación a 45 °C durante 60–120 minutos.

Coloque los portaobjetos en el Hybridizer, asegúrese de que la tapa esté bien cerrada e inicie el programa. Consulte el manual de instrucciones de Dako Hybridizer para obtener más detalles.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

* Para la desnaturalización y la hibridación puede utilizar instrumental que permita condiciones idénticas a las arriba descritas.

Coloque los portaobjetos sobre una superficie metálica o de piedra plana (sobre un bloque de calentamiento o un bloque en un horno de hibridación) precalentado a $66 (\pm 1) ^\circ\text{C}$. Desnaturalice durante exactamente 10 minutos. Introduzca los portaobjetos en una cámara de hibridación humidificada precalentada. Cubra la cámara con una tapa e incube a $45 (\pm 2) ^\circ\text{C}$ durante 60–120 minutos. Tenga en cuenta que una temperatura de hibridación de $37 ^\circ\text{C}$ no es adecuada para las sondas incluidas en este kit.

Paso 4: Lavado astringente

Llene dos recipientes de tinción, por ejemplo recipientes de Coplin, con tampón de lavado astringente diluido (consulte las INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.2). Se recomienda utilizar un volumen mínimo de 100 mL o 15 mL por portaobjetos en cada recipiente.

Introduzca uno de los recipientes de tinción con tampón de lavado astringente diluido a temperatura ambiente en una campana extractora de gases, y el otro recipiente en un baño de agua. Caliente el baño de agua y el tampón de lavado astringente diluido a $63 (\pm 2) ^\circ\text{C}$. Asegúrese de que la temperatura se haya estabilizado. Tape el recipiente para estabilizar la temperatura y evitar la evaporación. Mida la temperatura del interior del recipiente que está en el baño de agua con un termómetro calibrado a fin de mantener la temperatura correcta. El tampón de lavado astringente contiene detergente y puede volverse turbio a $63 ^\circ\text{C}$; esto no afecta a su eficacia.

Utilizando pinzas o guantes, saque los portaobjetos de la cámara de hibridación y, con cuidado, elimine el sellador de cubreobjetos, así como los cubreobjetos, e introduzca los portaobjetos en el recipiente de prelavado a temperatura ambiente, uno por uno.

Tan pronto como se hayan quitado todos los cubreobjetos, transfiera los portaobjetos del recipiente de prelavado a temperatura ambiente al recipiente del baño de agua a $63 (\pm 2) ^\circ\text{C}$.

Inmediatamente después de transferir los portaobjetos al tampón de lavado astringente diluido a $63 (\pm 2) ^\circ\text{C}$ al baño de agua, inicie el cronómetro. Realice el lavado astringente durante exactamente 10 minutos. Saque los portaobjetos del tampón de lavado astringente diluido y empape los cortes en tampón de lavado diluido durante 3 minutos a temperatura ambiente ($20\text{--}25 ^\circ\text{C}$).

Cambie el tampón de lavado diluido y empape los cortes durante 3 minutos más.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Deshidrate los cortes de tejido mediante una serie graduada de etanol: 2 minutos en etanol al 70%, 2 minutos en etanol al 85%, y 2 minutos en etanol al 96%.

Deje que los cortes de tejido se sequen por completo.

Paso 5: Montaje

Aplique 15 μ L del medio de montaje fluorescente que contiene DAPI (Vial 5) al área diana del portaobjetos y cubra con un cubreobjetos de vidrio.

NOTA: Puede leer los portaobjetos transcurridos 15 minutos desde el montaje, o dentro de un período de 7 días. No obstante, tenga en cuenta que si expone los portaobjetos a la luz o a altas temperaturas, se produce desvanecimiento. A fin de reducir al mínimo el desvanecimiento, almacene los portaobjetos en la oscuridad a $-18-8^{\circ}\text{C}$.

Gástrico

A. Preparación de los reactivos Gástrico

Es conveniente preparar los siguientes reactivos antes de proceder con la tinción:

A.1 Solución de pretratamiento

Es posible que aparezcan cristales en el Vial 1, pero, a temperatura ambiente, se disuelven. Asegúrese de que no haya cristales antes de la preparación del reactivo.

Diluya una cantidad suficiente del Vial 1 (solución de pretratamiento 20x) diluyendo el concentrado 1:20 en agua destilada o desionizada. La solución diluida sin usar puede almacenarse a $2-8^{\circ}\text{C}$ durante un mes. Deseche la solución diluida si está turbia.

A.2 Tampón de lavado astringente

Diluya una cantidad suficiente del Vial 4 (Tampón de lavado astringente 20x) diluyendo el concentrado 1:20 en agua destilada o desionizada. El tampón diluido sin usar puede almacenarse a $2-8^{\circ}\text{C}$ durante un mes. Si el tampón diluido presenta un aspecto turbio, deséchelo.

A.3 Tampón de lavado

Diluya una cantidad suficiente del Vial 6 (tampón de lavado 20x) diluyendo el concentrado al 1:20 en agua destilada o desionizada. El tampón diluido sin usar puede almacenarse a $2-8^{\circ}\text{C}$ durante un mes. Si el tampón diluido presenta un aspecto turbio, deséchelo.

A.4 Serie de etanol

A partir de una solución de etanol al 96%, prepare 3 recipientes con etanol al 70%, 85% y 96%, respectivamente. Almacene los recipientes tapados a temperatura ambiente o a una



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

temperatura de 2–8 °C, y utilícelos con un máximo de 200 portaobjetos. Si las soluciones presentan un aspecto turbio, deséchelas.

A.5. Solución de pepsina

Solo se necesita una solución de pepsina cuando se usa el método de inmersión en pepsina (Método C).

Prepare la solución de pepsina como sigue;

Para un recipiente con una capacidad de seis portaobjetos prepare 60 mL de solución de pepsina:

Añada 48 mL de agua destilada o desionizada a temperatura ambiente (20–25 °C) al recipiente.

Añada 6 mL de diluyente de pepsina frío (2–8 °C) (10x) (Vial 2B) al recipiente.

Añada 6 mL de pepsina fría (2–8 °C) (Vial 2A) al recipiente.

Coloque la tapa del recipiente y equilibre la solución de pepsina a 37 (±2) °C en un baño de agua.

Para un recipiente con una capacidad de 24 portaobjetos y 240 mL de solución de pepsina:

Añada 192 mL de agua destilada o desionizada a temperatura ambiente (20–25 °C) al recipiente.

Añada 24 mL de diluyente de pepsina frío (2–8 °C) (10x) (Vial 2B) al recipiente.

Añada 24 mL de pepsina fría (2–8 °C) (Vial 2A) al recipiente.

Coloque la tapa del recipiente y equilibre la solución de pepsina a 37 (±2) °C en un baño de agua.

La solución de pepsina equilibrada se debe usar dentro de las 5 horas siguientes.

B. Procedimiento de tinción

Gástrico

B.1 Notas sobre el procedimiento

El usuario debe leer detenidamente estas instrucciones y familiarizarse con todos los componentes antes de su uso (consulte la Sección Precauciones).

Todos los reactivos deben equilibrarse a la temperatura ambiente antes de su uso, de la manera descrita a continuación:

Vial 1: La solución de pretratamiento diluida debe equilibrarse a 95–99 °C si se utiliza un baño de agua para el pretratamiento (B3. Protocolo de tinción, Paso 1: Método de



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is written over a printed name and title. The signature on the right is also in blue ink and is written over a printed name and title.

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

pretratamiento A). Si se utiliza un microondas con capacidad de detección para el pretratamiento (B3. Protocolo de tinción, Paso 1: Pretratamiento, Método B) la solución de pretratamiento diluida debe equilibrarse a una temperatura ambiente de 20–25 °C.

Vial 2A: La pepsina debe aplicarse a 2–8 °C (B3, Protocolo de tinción, Paso 2 Método A y B) y mantener fría a todo momento.

Vial 2B: El diluyente de pepsina (10x) debe aplicarse a 2–8 °C (B3, Protocolo de tinción, Paso 2, Método C).

Vial 3: La mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH se separa en dos fases cuando se conserva a -18 °C. Antes de utilizar el Vial 3, asegúrese de que sólo haya una fase, equilibrando la mezcla de sondas a temperatura ambiente (20–25 °C) seguido de la mezcla. Descongele el Vial 3 a temperatura ambiente (20–25 °C) durante un máximo de 30 minutos (protéjalo de fuentes de luz intensas) y luego mezcle bien en remolino el vial durante 15 segundos a 2500 rpm usando un mezclador vórtex. Guarde el Vial 3 a -18 °C inmediatamente después de usarlo.

Vial 4: tampón de lavado astringente diluido; uno de los recipientes debe equilibrarse a temperatura ambiente, y el otro a 63 (±2) °C antes de su uso.

Vial 5: el medio de montaje fluorescente puede aplicarse a cualquier temperatura de 2 a 25 °C.

Vial 6: el tampón de lavado diluido debe equilibrarse a temperatura ambiente 20–25 °C.

El sellador de cubreobjetos puede aplicarse a cualquier temperatura en el rango 2–25 °C.

Todos los pasos deben llevarse a cabo a las temperaturas indicadas.

El procedimiento incluye una serie de deshidrataciones, seguidas del secado de los cortes de tejido. Asegúrese de que los cortes de tejido estén completamente secos antes de continuar con el paso siguiente. No permita que los cortes de tejido se sequen durante los demás pasos del procedimiento.

Si tiene que interrumpir el procedimiento de tinción, puede conservar los portaobjetos en el tampón de lavado tras el paso de desparafinado durante un máximo de 1 hora a temperatura ambiente (20–25 °C) sin que esto afecte a los resultados.

B.2 Tratamiento de los tejidos antes de la tinción

Eliminación de la parafina y rehidratación: Antes de llevar a cabo el análisis, debe eliminar la parafina de los portaobjetos de tejido para eliminar el medio de inclusión y rehidratarlos. Trate de no dejar restos de parafina. Cualquier residuo del medio de inclusión provocaría



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

un aumento de la tinción no específica. Este paso debe realizarse a temperatura ambiente (20–25 °C).

1. Coloque los portaobjetos en un baño de xileno e incube durante 5 (± 1) minutos. Cambie los baños y repita el paso una vez.
2. Golpee suavemente para eliminar el exceso de líquido e introduzca los portaobjetos en etanol al 96% durante 2 (± 1) minutos. Cambie los baños y repita el paso una vez.
3. Golpee suavemente para eliminar el exceso de líquido e introduzca los portaobjetos en etanol al 70% durante 2 (± 1) minutos. Cambie los baños y repita el paso una vez.
4. Golpee suavemente para eliminar el exceso de líquido e introduzca los portaobjetos en el tampón de lavado diluido (consulte INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.3) durante un mínimo de 2 minutos. Inicie el procedimiento de tinción de la forma descrita en la Sección B.3, Paso 1, Pretratamiento.

Cambie las soluciones de xileno y de alcohol después de cada 200 portaobjetos o menos. Puede utilizar sustitutivos del xileno.

NOTA: Los reactivos y las instrucciones suministrados con este kit se han diseñado para obtener resultados óptimos. Una mayor dilución de los reactivos o la modificación de las temperaturas de incubación pueden producir resultados erróneos o discordantes. Cualquier diferencia en el procesamiento del tejido y en los procedimientos técnicos que el usuario llevase a cabo en su laboratorio podría invalidar los resultados del ensayo.

B.3 Protocolo de tinción

Paso 1: Pretratamiento

El pretratamiento se puede realizar o bien mediante un baño de agua, según lo descrito en el método A) o, alternativamente, utilizando un microondas con capacidad de detección, según lo descrito en el método B).

Método A: Pretratamiento mediante baño de agua

Llene los recipientes, por ejemplo, recipientes de Coplin, con la solución de pretratamiento diluida (consulte las INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.1). Coloque los recipientes de tinción con la solución de pretratamiento diluido en un baño de agua. Caliente el baño de agua y la solución de pretratamiento a 95–99 °C. Mida la temperatura del interior de los recipientes con un termómetro calibrado a fin de mantener la temperatura correcta. Tape los recipientes a fin de estabilizar la temperatura y evitar la evaporación.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Sumerja los cortes desparafinados a temperatura ambiente en la solución de pretratamiento precalentada en los recipientes de tinción. Vuelva a comprobar la temperatura e incube durante 10 (\pm 1) minutos a 95–99 °C.

Retire del baño de agua el recipiente completo con los portaobjetos. Retire la tapa y deje que los portaobjetos se enfríen en la solución de pretratamiento durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Introduzca los portaobjetos en un recipiente que contenga tampón de lavado diluido (consulte las INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.3) durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más.

NOTA: la solución de pretratamiento está diseñada para aplicarla una sola vez. No reutilizar.

Método B: pretratamiento utilizando un microondas con capacidad de detección

Rellene un recipiente de plástico con solución de pretratamiento diluida a temperatura ambiente (20–25 °C). Sumerja los cortes desparafinados en la solución de pretratamiento, cubra el recipiente con una tapa perforada y colóquelo en el horno microondas. Seleccione la función de detección de ebullición y un programa que funcione 10 minutos tras haber alcanzado la temperatura de ebullición*.

Tras los 10 minutos de incubación, saque del microondas el recipiente con los portaobjetos, retire la tapa y deje enfriar durante 15 minutos a temperatura ambiente. Transfiera los portaobjetos a un recipiente con tampón de lavado diluido y déjelos a remojo durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C). Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más.

* El uso de un horno microondas con capacidades de detección significa que el horno debe contar con un sensor y programas que calienten inicialmente la solución de pretratamiento hasta el punto de ebullición y mantengan posteriormente la temperatura de pretratamiento necesaria (por encima de los 95 °C) mientras realiza una cuenta atrás del tiempo preseleccionado (10 (\pm 1) minutos). Es posible que algunos microondas con capacidad de detección no incluyan la posibilidad de fijar libremente una cuenta atrás. Si el modelo sólo incluye programas predefinidos, asegúrese de seleccionar un programa que mantenga la temperatura de pretratamiento necesaria (por encima de 95 °C) durante al menos 10 (\pm 1) minutos y detenga manualmente el programa transcurridos 10 (\pm 1) minutos.

NOTA: La solución de pretratamiento se ha diseñado para un solo uso. No reutilizar.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Paso 2: La incubación en pepsina, pepsina lista para su uso (RTU), o solución de pepsina se puede realizar aplicando directamente gotas de pepsina RTU en los portaobjetos a temperatura ambiente (20–25 °C) (Método A) o a 37 °C (Método B). O bien, puede sumergir los portaobjetos en una solución de pepsina e incubarlos a 37 (±2) °C (Método C).

Método A y Método B:

Golpee suavemente para eliminar el exceso de tampón. Utilizando un paño sin pelusa (por ejemplo, un paño absorbente o almohadillas de gasa), frote con cuidado alrededor de la muestra a fin de eliminar cualquier resto de líquido y de mantener los reactivos dentro del área prescrita.

Aplique 5–8 gotas (250 µL) de pepsina fría (2–8 °C) (Vial 2A) para cubrir la muestra. Almacene siempre la pepsina a 2–8 °C.

Método A: Pepsina, RTU - Incubación a 20–25 °C

Incube durante 5–15 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C). Un tiempo de incubación de 5–15 minutos es adecuado para la mayoría de las muestras, aunque el tiempo óptimo de incubación puede depender de la fijación del tejido y/o del grosor de la muestra y debe ser determinado por el usuario.

Golpee suavemente para eliminar cualquier resto de pepsina y empape los cortes en tampón de lavado diluido (consulte INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.3) durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado diluido y empape los cortes durante 3 minutos más. Continúe hasta la deshidratación.

Método B: Pepsina, RTU - Incubación a 37 °C

Coloque la muestra con pepsina en un bloque calefactor a 37 °C (p. ej. Dako Hybridizer) e incube durante 3–5 minutos. Un tiempo de incubación de 3–5 minutos es adecuado para la mayoría de las muestras, aunque el tiempo óptimo de incubación puede depender de la fijación del tejido y/o del grosor de la muestra y debe ser determinado por el usuario.

Golpee suavemente para eliminar el exceso de pepsina y sumerja los cortes en tampón de lavado diluido durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más. Continúe hasta la deshidratación.

Deshidrate los cortes de tejido mediante una serie graduada de etanol: 2 minutos en etanol al 70%, 2 minutos en etanol al 85%, y 2 minutos en etanol al 96%.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Deje que los cortes de tejido se sequen al aire completamente.

Método C: Solución de pepsina - Inmersión de los portaobjetos en una solución de pepsina a 37 °C

El kit contiene suficientes reactivos para cuatro ciclos separados (60 mL de solución de pepsina, recipiente pequeño para seis portaobjetos) o un único ciclo (240 mL de solución de pepsina, recipiente grande para 24 portaobjetos). Prepare la solución de pepsina de la forma descrita en la Sección A.5.

Coloque la tapa del recipiente y equilibre la solución de pepsina a 37 (± 2) °C en un baño de agua. Asegúrese de que la temperatura se haya estabilizado. Mida la temperatura del interior del recipiente con un termómetro calibrado a fin de mantener la temperatura correcta.

Golpee suavemente para eliminar el exceso de tampón de lavado. Sumerja los portaobjetos en la solución de pepsina a 37 (± 2) °C e incube durante 20–30 minutos. Un tiempo de incubación de 20–30 minutos es adecuado para la mayoría de las muestras, aunque el tiempo óptimo de incubación puede depender de la fijación del tejido y/o del grosor de la muestra y debe ser determinado por el usuario.

Golpee suavemente para eliminar el exceso de solución de pepsina y sumerja los cortes en tampón de lavado diluido durante 3 minutos a temperatura ambiente (20–25 °C).

Sustituya el tampón de lavado y empape los cortes durante 3 minutos más. Continúe hasta la deshidratación.

Deshidrate los cortes de tejido mediante una serie graduada de etanol: 2 minutos en etanol al 70%, 2 minutos en etanol al 85%, y 2 minutos en etanol al 96%.

Deje que los cortes de tejido se sequen al aire completamente.

Paso 3: Mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH

La mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH se separa en dos fases cuando se conserva a -18 °C. Antes de utilizar el Vial 3, asegúrese de que sólo haya una fase, equilibrando la mezcla de sondas a temperatura ambiente (20–25 °C) seguido de la mezcla. Descongele el Vial 3 a temperatura ambiente (20–25 °C) durante un máximo de 30 minutos (protéjalo de fuentes de luz intensas) y luego mezcle bien en remolino el vial durante 15 segundos a 2500 rpm usando un mezclador vórtex. Guarde el Vial 3 a -18 °C inmediatamente después de usarlo.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Aplique 10 μ L de la mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH (Vial 3) en el centro del corte de tejido. Coloque inmediatamente un cubreobjetos de vidrio de 22 x 22 mm sobre la mezcla de sondas y deje que ésta se distribuya uniformemente debajo del cubreobjetos. Evite la formación de burbujas de aire. Si observa burbujas de aire, golpee suavemente con unas pinzas para retirarlas del tejido.

Recuerde guardar el Vial 3 a -18°C inmediatamente después de usarlo.

Selle el cubreobjetos con el sellador de cubreobjetos, extendiendo el sellador alrededor de la periferia del cubreobjetos. Deje que el sellador de cubreobjetos se superponga al cubreobjetos y al portaobjetos; así se formará un sello alrededor del cubreobjetos. Asegúrese de que el sellador de cubreobjetos cubra todo el borde del cubreobjetos.

Prepare Dako Hybridizer* (nº de catálogo S2450 o S2451) para un ciclo de hibridación. Asegúrese de que las Humidity Control Strips (nº de catálogo S2452) estén saturadas y en estado óptimo para su utilización. Inicie el Hybridizer y seleccione un programa que:

Desnaturalice a 66°C durante 10 minutos seguido de una hibridación a 45°C durante 60–120 minutos

Coloque los portaobjetos en el Hybridizer, asegúrese de que la tapa esté bien cerrada e inicie el programa. Consulte el manual de instrucciones de Dako Hybridizer para obtener más detalles.

* Para la desnaturalización y la hibridación puede utilizar instrumental que permita condiciones idénticas a las arriba descritas.

Coloque los portaobjetos sobre una superficie metálica o de piedra plana (sobre un bloque de calentamiento o un bloque en un horno de hibridación) precalentado a $66 (\pm 1)^{\circ}\text{C}$. Desnaturalice durante exactamente 10 minutos.

Introduzca los portaobjetos en una cámara de hibridación humidificada precalentada. Cubra la cámara con una tapa e incube a $45 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$ durante 60–120 minutos. Tenga en cuenta que una temperatura de hibridación de 37°C no es adecuada para las sondas incluidas en este kit.

Paso 4: Lavado astringente

Llene dos recipientes de tinción, por ejemplo recipientes de Coplin, con Tampón de lavado astringente diluido (consulte las INSTRUCCIONES DE USO, Sección A.2). Se recomienda utilizar un volumen mínimo de 100 mL o 15 mL por portaobjetos en cada recipiente.



Introduzca uno de los recipientes de tinción con Tampón de lavado astringente diluido a temperatura ambiente en una campana extractora de gases, y el otro recipiente en un baño de agua. Caliente el baño de agua y el tampón de lavado astringente diluido a $63 (\pm 2) ^\circ\text{C}$. Asegúrese de que la temperatura se haya estabilizado. Tape el recipiente para estabilizar la temperatura y evitar la evaporación. Mida la temperatura del interior del recipiente que está en el baño de agua con un termómetro calibrado a fin de mantener la temperatura correcta. El tampón de lavado astringente contiene detergente y puede volverse turbio a $63 ^\circ\text{C}$; esto no afecta a su eficacia.

Utilizando pinzas o guantes, saque los portaobjetos de la cámara de hibridación y, con cuidado, retire el sellador de cubreobjetos, así como los cubreobjetos, e introduzca los portaobjetos en el recipiente de prelavado a temperatura ambiente, uno por uno.

Tan pronto como se hayan quitado todos los cubreobjetos, transfiera los portaobjetos del recipiente de prelavado a temperatura ambiente al recipiente del baño de agua a $63 (\pm 2) ^\circ\text{C}$.

Inmediatamente después de transferir los portaobjetos al recipiente a $63 (\pm 2) ^\circ\text{C}$ al baño de agua, inicie el cronómetro. Lleve a cabo un lavado astringente durante 10 minutos exactos. Saque los portaobjetos del tampón de lavado astringente diluido y empape los cortes en tampón de lavado diluido durante 3 minutos a temperatura ambiente ($20\text{--}25 ^\circ\text{C}$).

Cambie el tampón de lavado diluido y empape los cortes durante 3 minutos más.

Deshidrate los cortes de tejido mediante una serie graduada de etanol: 2 minutos en etanol al 70%, 2 minutos en etanol al 85%, y 2 minutos en etanol al 96%.

Deje que los cortes de tejido se sequen por completo.

Paso 5: Montaje

Aplique $15 \mu\text{L}$ del medio de montaje fluorescente que contiene DAPI (Vial 5) al área diana del portaobjetos y cubra con un cubreobjetos de vidrio.

NOTA: puede leer los portaobjetos transcurridos 15 minutos desde el montaje, o dentro de un período de 7 días. No obstante, tenga en cuenta que si expone los portaobjetos a la luz o a altas temperaturas, se produce desvanecimiento. A fin de reducir al mínimo el desvanecimiento, almacene los portaobjetos en la oscuridad a $-18\text{--}8 ^\circ\text{C}$.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

11. Instrucciones de uso modelo 93

Cáncer de mama

A. Preparación de los reactivos - Mama

A.1 HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis)

El vial HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) contiene una bola metálica recubierta de oro que se utiliza para mezclar. Antes de cargar el vial en Dako Omnis, debe descongelarse el reactivo y mezclarse a conciencia, ya que se separa en fases durante la refrigeración.

Utilice el dispositivo de mezcla Dako Omnis para mezclar la sonda.

Siga el procedimiento que se indica a continuación para mezclar la sonda en el dispositivo de mezcla Dako Omnis y consulte el Manual del usuario del dispositivo de mezcla si desea más información.

1. Saque el vial de HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) del congelador.
2. Cargue el vial en el dispositivo de mezcla Dako Omnis.
3. Conecte el dispositivo de mezcla y asegúrese de que esté encendida la luz de estado verde.

Seleccione el programa "descongelar + mezclar". Importante: Los viales almacenados por debajo de -25 °C deben descongelarse (justo) antes de cargar el vial en el dispositivo de mezcla Dako Omnis y se debe utilizar el programa de "mezcla".

4. Retire el vial del dispositivo de mezcla.
5. Levante hacia atrás la tapa superior y colóquela en la posición de corte (consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis si desea más información).
6. Cargue inmediatamente el vial en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) del instrumento Dako Omnis. Si se utiliza la función de carga continua de reactivos durante la sesión de tinción, asegúrese de que el tiempo desde la mezcla a la aspiración del vial en Dako Omnis es de al menos de 10 minutos.

La sonda HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se puede volver a descongelar y utilizar hasta un máximo de 10 veces.

Mezcle siempre la HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) Probe Mix justo antes de cargarla en el instrumento. No se debe agitar. La estabilidad total en el instrumento de ISH HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) es de 80 horas cuando se almacena en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) en Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). HER2 IQFISH



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

pharmDx (Dako Omnis) será transferido inmediatamente tras el tiempo en carga en Dako Omnis a $< -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (se recomienda de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

A.2 ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis)

Prepare una solución de trabajo diluyendo el concentrado de ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) 1:20 de la siguiente forma:

1. Llene una garrafa de 3,5 l del sistema Dako Omnis, marcada como PTB (etiqueta azul), con agua desionizada hasta la línea de llenado (3,325 l). Antes de proceder al llenado, asegúrese de que la garrafa esté colocada en una superficie horizontal.
2. Vacíe un frasco con 175 ml de concentrado de ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) en la garrafa.
3. Quite la etiqueta del frasco de concentrado y péguela en la garrafa. Cierre la tapa de la garrafa e invierta la garrafa con cuidado 2-3 veces.
4. Utilice el lector de códigos de barras de mano Dako Omnis para identificar el reactivo (escanee la etiqueta despegable y la garrafa).
5. Cargue inmediatamente la garrafa en el instrumento Dako Omnis.

La solución diluida puede utilizarse durante un periodo de 7 días si se almacena en el instrumento Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). La solución diluida no utilizada puede almacenarse a $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 días. Tras el almacenamiento en frío, asegúrese de que la solución diluida está estabilizada al menos a $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes de cargarla en Dako Omnis.

NOTA: Deseche la solución diluida si está turbia.

A.3 ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis)

Prepare una solución de trabajo diluyendo el concentrado de ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) 1:20 de la siguiente forma:

1. Llene una garrafa de 3,5 l del sistema Dako Omnis, marcada como PTB (etiqueta azul), con agua desionizada hasta la línea de llenado (3,325 l). Antes de proceder al llenado, asegúrese de que la garrafa esté colocada en una superficie horizontal.
2. Vacíe un frasco con 175 ml de concentrado de ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) en la garrafa.
3. Quite la etiqueta del frasco de concentrado y péguela en la garrafa. Cierre la tapa de la garrafa e invierta la garrafa con cuidado 2-3 veces.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

4. Utilice el lector de códigos de barras de mano Dako Omnis para identificar el reactivo (escanee la etiqueta despegable y, a continuación, la garrafa).

5. Cargue inmediatamente la garrafa en el instrumento Dako Omnis.

La solución diluida puede utilizarse durante un periodo de 7 días si se almacena en el instrumento Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). La solución diluida no utilizada puede almacenarse a 2-8 °C durante un máximo de 30 días. Tras el almacenamiento en frío, asegúrese de que la solución diluida está estabilizada al menos a 18 °C antes de cargarla en Dako Omnis.

NOTA: Deseche la solución diluida si está turbia.

A.4 ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis)

ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) es un reactivo listo para su uso. Antes de cargarlo en Dako Omnis, levante hacia atrás la tapa superior del tapón y colóquela en la posición de corte.

La estabilidad total en el instrumento de ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) es de 80 horas cuando se almacena en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) en Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). Tras la finalización de una sesión, ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) se puede transferir a temperatura de almacenamiento (2-8 °C) para conservar el tiempo de estabilidad en el instrumento.

A.5 ISH Pepsin (Dako Omnis)

ISH Pepsin (Dako Omnis) es un reactivo listo para su uso. Antes de cargarlo en Dako Omnis, asegúrese de que el reactivo se ha descongelado y levante hacia atrás la tapa superior del tapón y colóquela en la posición de corte.

La estabilidad total en el instrumento de ISH Pepsin (Dako Omnis) es de 80 horas cuando se almacena en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) en Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). Tras la finalización de una sesión, ISH Pepsin (Dako Omnis) debe transferirse a temperatura de almacenamiento, entre -18 y 8 °C para conservar el tiempo de estabilidad en el instrumento.

A.6 Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis)



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is positioned above the printed name and title of BIOD. The second signature is in blue ink and is positioned above the printed name and title of ALEJANDRO BOGINOVICH.

BIOD
Biod. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) es un medio de montaje listo para su uso que se utiliza fuera del instrumento Dako Omnis. Transfiera Fluorescence Mounting Medium a temperatura de almacenamiento (2-8 °C) inmediatamente después de utilizarlo.

A.7 Accesorios adicionales

Se deben cargar además los siguientes accesorios en el instrumento Dako Omnis: agua desionizada; Wash Buffer diluido 20x (Dako Omnis), n.º de catálogo GC807; Clearify™, n.º de catálogo GC810; ISH Cleaning Solution n.º de catálogo GC207; y tapas ISH Lid (Dako Omnis), n.º de catálogo GC102, tal como se especifica en los Manuales del usuario de Dako Omnis.

B. Procedimiento de tinción - Mama

B.1 Notas sobre el procedimiento

HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) es la sonda de hibridación para el ensayo de hibridación in situ fluorescente (FISH) directo automatizado del instrumento Dako Omnis y que, junto con los reactivos accesorios GM300, GM301, GM302, GM303 y GM304 (GM304 fuera del instrumento), se ha diseñado para la determinación cuantitativa de la amplificación del gen HER2. Antes de su uso, el usuario debe leer todas estas instrucciones atentamente y familiarizarse con todos los componentes y las distintas precauciones.

El procedimiento de tinción FISH automatizado en Dako Omnis incluye la desparafinización de cortes de tejido, la recuperación diana, la digestión con pepsina, la hibridación y el lavado astringente. Los portaobjetos se descargan en la estación de descarga seca. Todos los pasos del protocolo están preprogramados en el software Dako Omnis.

Consulte los Manuales del usuario de Dako Omnis para ver instrucciones sobre la carga de portaobjetos, tapas ISH Lid, reactivos, etc. Tres protocolos HER2 IQFISH validados: corto HER2 IQFISH con pepsina, medio HER2 IQFISH con pepsina y largo HER2 IQFISH con pepsina, que solo difieren en el tiempo de digestión con pepsina, están preprogramados en el software Dako portaobjetos. De esta manera se optimiza la digestión del tejido que puede depender de las condiciones anteriores del análisis. El protocolo medio HER2 IQFISH con pepsina se considera el protocolo estándar. Los diferentes protocolos de tinción se pueden ver en la estación de trabajo Dako Link Omnis.

Además, el usuario puede optar por usar una plantilla de protocolo IQFISH. Las condiciones óptimas pueden variar en función del tipo de muestra y del método de preparación y deberán ser validadas en cada laboratorio.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is above the printed name: **Bioq. Alida Lucía Álvarez**, Directora Técnica, Matriculada Provincial N° 7.998. The second signature is in blue ink and is above the printed name: **ALEJANDRO BOGNOVICH**, ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A., APODERADO.

B.2. Procedimiento previo a la tinción

1. Seleccione el protocolo HER2 IQFISH que desea aplicar en cada portaobjetos en el software de la estación de trabajo Dako Link Omnis, en los protocolos IQFISH.
2. Imprima las etiquetas para portaobjetos y adjúntelas a los portaobjetos de vidrio.
3. Coloque los portaobjetos en la gradilla de portaobjetos. Para obtener más información, consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis. Una gradilla de portaobjetos puede incluir hasta cinco portaobjetos. Se recomienda que al menos dos portaobjetos se tiñan en una sesión de tinción HER2 IQFISH.
4. Cargue la gradilla de portaobjetos en el instrumento Dako Omnis.
5. Cargue las tapas ISH Lid (una tapa ISH Lid por gradilla de portaobjetos) en Dako Omnis.
6. Asegúrese de que las garrafas con líquido se encuentran en el instrumento y se registran en Dako Omnis. Garrafas con líquido: Clearify™ (agente depurador), ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis) diluida, ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis) diluido y Wash Buffer (Dako Omnis) diluido.
7. Cargue ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis), ISH Pepsin (Dako Omnis), la HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) mezclada recientemente y ISH Cleaning Solution en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos). Asegúrese de que las tapas superiores de los tapones están abiertas.
8. Siga las instrucciones de la pantalla táctil y toque en "Done" (Finalizado) para iniciar el procedimiento de tinción.

B.3. Procedimiento de tinción

El procedimiento de tinción HER2 IQFISH en el instrumento Dako Omnis (resumido en la Tabla 1) se puede controlar en la estación de trabajo Dako Link Omnis:



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the printed text: "Bco. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

Tabla 1. Descripción simplificada de los pasos del protocolo de tinción HER2 IQFISH.

Paso	Reactivo	Tiempo y temperatura
Descerado	Clearify™ (agente depurador)	10 minutos, 38 °C
Recuperación antigénica	ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis)	15 minutos, 97 °C
Lavado	ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis)	2 x 3 minutos, 32 °C
Digestión*	ISH Pepsin (Dako Omnis)	10, 15 o 20 minutos
Secado		15 minutos, 45 °C
Desnaturalización		10 minutos, 66 °C
Hibridación	HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis)	75 minutos, 45 °C

Lavado astringente	ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	10 minutos, 61 °C
--------------------	--	-------------------

*Se pueden seleccionar tres tiempos de digestión con pepsina validados con los protocolos HER2 IQFISH anteriormente especificados.

Si no se va a realizar ninguna tinción ISH inminente, transfiera todos los reactivos a las temperaturas de almacenamiento recomendadas.

B.4. Procedimiento posterior a la tinción

Descargue los portaobjetos y aplique hasta 30 µl de Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) con DAPI al área diana del portaobjetos. El corte de tejido debe cubrirse completamente con Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis). Aplique un cubreobjetos de vidrio.

NOTA: Puede leer los portaobjetos transcurridos 15 minutos desde el montaje, o dentro de un período de 7 días. No obstante, tenga en cuenta que si expone los portaobjetos a la luz o a altas temperaturas, se produce desvanecimiento. A fin de minimizar el desvanecimiento, almacene los portaobjetos en la oscuridad entre -18 y 8 C.

A. Preparación de los reactivos - Gástrico

A.1 HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis)

El vial HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) contiene una bola metálica recubierta de oro que se utiliza para mezclar. Antes de cargar el vial en Dako Omnis, debe descongelarse el reactivo y mezclarse a conciencia, ya que se separa en fases durante la refrigeración.

Utilice el dispositivo de mezcla Dako Omnis para mezclar la sonda.




 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Siga el procedimiento que se indica a continuación para mezclar la sonda en el dispositivo de mezcla Dako Omnis y consulte el Manual del usuario del dispositivo de mezcla si desea más información.

1. Saque el vial de HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) del congelador.
2. Cargue el vial en el dispositivo de mezcla Dako Omnis.
3. Conecte el dispositivo de mezcla y asegúrese de que esté encendida la luz de estado verde.
4. Seleccione el programa "descongelar + mezclar". Importante: Los viales almacenados por debajo de -25 °C deben descongelarse (justo) antes de cargar el vial en el dispositivo de mezcla Dako Omnis y se debe utilizar el programa de "mezcla".
5. Retire el vial del dispositivo de mezcla.
6. Levante hacia atrás la tapa superior y colóquela en la posición de corte (consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis si desea más información).
7. Cargue inmediatamente el vial en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) del instrumento Dako Omnis. Si se utiliza la función de carga continua de reactivos durante la sesión de tinción, asegúrese de que el tiempo desde la mezcla a la aspiración del vial en Dako Omnis es de al menos de 10 minutos.

La sonda HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se puede volver a descongelar y utilizar hasta un máximo de 10 veces.

Mezcle siempre la HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) Probe Mix justo antes de cargarla en el instrumento. No se debe agitar. La estabilidad total en el instrumento de ISH HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) es de 80 horas cuando se almacena en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) en Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) será transferido inmediatamente tras el tiempo en carga en Dako Omnis a < -18 °C (se recomienda de -18 °C a -25 °C).

A.2 ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis)

Prepare una solución de trabajo diluyendo el concentrado de ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) 1:20 de la siguiente forma:

1. Llene una garrafa de 3,5 l del sistema Dako Omnis, marcada como PTB (etiqueta azul), con agua desionizada hasta la línea de llenado (3,325 l). Antes de proceder al llenado, asegúrese de que la garrafa esté colocada en una superficie horizontal.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the printed text: "Bco. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is also in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

2. Vacíe un frasco con 175 ml de concentrado de ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) en la garrafa.
3. Quite la etiqueta del frasco de concentrado y péguela en la garrafa. Cierre la tapa de la garrafa e invierta la garrafa con cuidado 2-3 veces.
4. Utilice el lector de códigos de barras de mano Dako Omnis para identificar el reactivo (escanee la etiqueta despegable y la garrafa).
5. Cargue inmediatamente la garrafa en el instrumento Dako Omnis.

La solución diluida puede utilizarse durante un periodo de 7 días si se almacena en el instrumento Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). La solución diluida no utilizada puede almacenarse a 2-8 °C durante 30 días. Tras el almacenamiento en frío, asegúrese de que la solución diluida se ha estabilizado al menos a 18 °C antes de cargarla en Dako Omnis.

NOTA: Deseche la solución diluida si está turbia.

A.3 ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis)

Prepare una solución de trabajo diluyendo el concentrado de ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) 1:20 de la siguiente forma:

1. Llene una garrafa de 3,5 l del sistema Dako Omnis, marcada como PTB (etiqueta azul), con agua desionizada hasta la línea de llenado (3,325 l). Antes de proceder al llenado, asegúrese de que la garrafa esté colocada en una superficie horizontal.
2. Vacíe un frasco con 175 ml de concentrado de ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) en la garrafa.
3. Quite la etiqueta del frasco de concentrado y péguela en la garrafa. Cierre la tapa de la garrafa e invierta la garrafa con cuidado 2-3 veces.
4. Utilice el lector de códigos de barras de mano Dako Omnis para identificar el reactivo (escanee la etiqueta despegable y, a continuación, la garrafa).
5. Cargue inmediatamente la garrafa en el instrumento Dako Omnis.

La solución diluida puede utilizarse durante un periodo de 7 días si se almacena en el instrumento Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). La solución diluida no utilizada puede almacenarse a 2-8 °C durante un máximo de 30 días. Tras el almacenamiento en frío, asegúrese de que la solución diluida está estabilizada al menos a 18 °C antes de cargarla en Dako Omnis.

NOTA: Deseche la solución diluida si está turbia



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

A.4 ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis)

ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) es un reactivo listo para su uso. Antes de cargarlo en Dako Omnis, levante hacia atrás la tapa superior del tapón y colóquela en la posición de corte.

La estabilidad total en el instrumento de ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) es de 80 horas cuando se almacena en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) en Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). Tras la finalización de una sesión, ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) se puede transferir a temperatura de almacenamiento (2-8 °C) para conservar el tiempo de estabilidad en el instrumento.

A.5 ISH Pepsin (Dako Omnis)

ISH Pepsin (Dako Omnis) es un reactivo listo para su uso. Antes de cargarlo en Dako Omnis, asegúrese de que el reactivo se ha descongelado y levante hacia atrás la tapa superior del tapón y colóquela en la posición de corte.

La estabilidad total en el instrumento de ISH Pepsin (Dako Omnis) es de 80 horas cuando se almacena en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos) en Dako Omnis. El software Dako Omnis controla la estabilidad restante en el equipo (vea el apartado anterior). Tras la finalización de una sesión, ISH Pepsin (Dako Omnis) debe transferirse a temperatura de almacenamiento, entre -18 y 8 °C para conservar el tiempo de estabilidad en el instrumento.

Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) es un medio de montaje listo para su uso que se utiliza fuera del instrumento Dako Omnis. Transfiera Fluorescence Mounting Medium a temperatura de almacenamiento (2-8 °C) inmediatamente después de utilizarlo.

A.7 Accesorios adicionales

Se deben cargar además los siguientes accesorios en el instrumento Dako Omnis: agua desionizada; Wash Buffer diluido 20x (Dako Omnis), n.º de catálogo GC807; Clearify™ (Dako Omnis), n.º de catálogo GC810; ISH Cleaning Solution n.º de catálogo GC207, y tapas ISH Lid (Dako Omnis), n.º de catálogo GC102, tal como se especifica en los Manuales del usuario de Dako Omnis.

B. Procedimiento de tinción - Gástrico

B.1 Notas sobre el procedimiento



The image shows two signatures in blue ink. The signature on the left is for Alida Lucía Álvarez, and the signature on the right is for Alejandro Bogdanovich. Below each signature is their printed name and title.

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) es la sonda de hibridación para el ensayo de hibridación in situ fluorescente (FISH) directo automatizado del instrumento Dako Omnis y que, junto con los reactivos accesorios GM300, GM301, GM302, GM303 y GM304 (GM304 fuera del instrumento), se ha diseñado para la determinación cuantitativa de la amplificación del gen HER2. Antes de su uso, el usuario debe leer todas estas instrucciones atentamente y familiarizarse con todos los componentes y las distintas precauciones.

El procedimiento automatizado en Dako Omnis incluye la desparafinización de cortes de tejido, la recuperación diana, la digestión con pepsina, la hibridación y el lavado astringente. Los portaobjetos se descargan en la estación de descarga seca. Todos los pasos del protocolo están preprogramados en el software Dako Omnis.

Consulte los Manuales del usuario de Dako Omnis para ver instrucciones sobre la carga de portaobjetos, tapas ISH Lid, reactivos, etc. Tres protocolos HER2 IQFISH validados: corto HER2 IQFISH con pepsina, medio HER2 IQFISH con pepsina y largo HER2 IQFISH con pepsina, que solo difieren en el tiempo de digestión con pepsina, están preprogramados en el software Dako Omnis y se pueden seleccionar para cada uno de los cinco portaobjetos de la gradilla de portaobjetos. De esta manera se optimiza la digestión del tejido que puede depender de las condiciones anteriores del análisis. El protocolo medio HER2 IQFISH con pepsina se considera el protocolo estándar. Los diferentes protocolos de tinción se pueden ver en la estación de trabajo Dako Link Omnis.

Además, el usuario puede optar por usar una plantilla de protocolo IQFISH. Las condiciones óptimas pueden variar en función del tipo de muestra y del método de preparación y deberán ser validadas en cada laboratorio.

B.2. Procedimiento previo a la tinción

1. Seleccione el protocolo HER2 IQFISH que desea aplicar en cada portaobjetos en el software de la estación de trabajo Dako Link Omnis, en los protocolos IQFISH.
2. Imprima las etiquetas para portaobjetos y adjúntelas a los portaobjetos de vidrio.
3. Coloque los portaobjetos en la gradilla de portaobjetos. Para obtener más información, consulte el Manual básico del usuario de Dako Omnis. Una gradilla de portaobjetos puede incluir hasta cinco portaobjetos. Se recomienda que al menos dos portaobjetos se tiñan en una sesión de tinción HER2 IQFISH.
4. Cargue la gradilla de portaobjetos en el instrumento Dako Omnis.
5. Cargue las tapas ISH Lid (una tapa ISH Lid por gradilla de portaobjetos) en Dako Omnis.



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

6. Asegúrese de que las garrafas con líquido se encuentran en el instrumento y se registran en Dako Omnis. Garrafas con líquido: Clearify™ (agente depurador), ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis) diluida, ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis) diluido y Wash Buffer (Dako Omnis) diluido.

7. Cargue ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis), ISH Pepsin (Dako Omnis), la HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) mezclada recientemente y ISH Cleaning Solution en el Reagent Storage Module (Módulo de almacenamiento de reactivos). Asegúrese de que las tapas superiores de los tapones están abiertas.

8. Siga las instrucciones de la pantalla táctil y toque en "Done" (Finalizado) para iniciar el procedimiento de tinción.

B.3. Procedimiento de tinción

El procedimiento de tinción HER2 IQFISH en el instrumento Dako Omnis (resumido en la Tabla 11) se puede controlar en la estación de trabajo Dako Link Omnis:

Tabla 11. Descripción simplificada de los pasos del protocolo de tinción HER2 IQFISH.

Paso	Reactivo	Tiempo y temperatura
Descerado	Clearify™ (agente depurador)	10 minutos, 38 °C
Recuperación antigénica	ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis)	15 minutos, 97 °C
Lavado	ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis)	2 x 3 minutos, 32 °C
Digestión*	ISH Pepsin (Dako Omnis)	10, 15 o 20 minutos
Secado		15 minutos, 45 °C
Desnaturalización		10 minutos, 66 °C
Hibridación	HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis)	75 minutos, 45 °C
Lavado astringente	ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	10 minutos, 61 °C

*Se pueden seleccionar tres tiempos de digestión con pepsina validados con los protocolos HER2 IQFISH anteriormente especificados.

Si no se va a realizar ninguna tinción ISH inminente, transfiera todos los reactivos a las temperaturas de almacenamiento recomendadas.

B.4. Procedimiento posterior a la tinción

Descargue los portaobjetos y aplique hasta 30 µl de Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) con DAPI al área diana del portaobjetos. El corte de tejido debe cubrirse



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

completamente con Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis). Aplique un cubreobjetos de vidrio.

NOTA: Puede leer los portaobjetos transcurridos 15 minutos desde el montaje, o dentro de un período de 7 días. No obstante, tenga en cuenta que si expone los portaobjetos a la luz o a altas temperaturas, se produce desvanecimiento. A fin de minimizar el desvanecimiento, almacene los portaobjetos en la oscuridad entre -18 y 8 C.

12. Interpretación de la tinción

Modelo #:

1. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
2. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática
3. Las células marcadas por el anticuerpo muestran una tinción confinada a la luz de los folículos tiroideos y la superficie apical de los tirocitos. En los carcinomas, el anticuerpo también puede mostrar tinción del citoplasma de los tirocitos.
4. Las células marcadas específicamente por el anticuerpo presentan un patrón de tinción limitado a la membrana celular.
5. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
6. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
7. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
8. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción nuclear y citoplasmática.
9. El patrón de tinción celular es citoplasmático y la luz de los folículos tiroideos y la superficie apical de los tirocitos
10. El anticuerpo reacciona con calcitonina humana. Las trazas de anticuerpos contaminados se han eliminado mediante la absorción de la fase sólida con proteínas de suero bovino y plasma humano.

El anticuerpo marca con una tinción fuerte las células C tiroideas humanas, y otras células que contienen calcitonina. No se ha observado tinción inespecífica alguna.

11. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
12. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
13. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
14. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is positioned above the printed name 'BIOQ. Alida Lucía Álvarez', 'Directora Técnica', and 'Matrícula Provincial N° 7.998'. The second signature is in blue ink and is positioned above the printed name 'ALEJANDRO BOGINOVICH', 'ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.', and 'APODERADO'.

15. Las células marcadas por el anticuerpo generalmente muestran tinción nuclear, pero también se ha informado de tinción citoplasmática en algunos casos.
16. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
17. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
18. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
19. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y de la membrana. En cortes de tejido de colon normal, el CEA se localiza fundamentalmente en el borde apical de las células epiteliales. En cortes de tejido de carcinoma de colon, el CEA se ubica principalmente en el borde apical de las estructuras glandulares, mientras que el marcado citoplasmático predomina en las partes más sólidas del tumor.
20. Los hepatocitos marcados por el anticuerpo presentan una tinción citoplasmática granular distintiva, que suele ser anular y se presenta en forma difusa en todo el citoplasma de los hepatocitos sin acentuación canalicular.
21. Las células marcadas por el anticuerpo muestran un patrón de tinción nuclear, con la excepción de las células mitóticas, en las que se marcan los cromosomas y el citoplasma.
22. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y nuclear.
23. El patrón de tinción celular es citoplasmático y membranoso.
24. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
25. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y de la membrana. La tinción de la membrana es, preferentemente, basolateral.
26. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y/o de la membrana.
27. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
28. El patrón de tinción celular es nuclear.
29. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
30. El patrón de tinción celular es citoplasmático y/o perinuclear.
31. El patrón de tinción celular es nuclear. También se ha documentado tinción citoplasmática en tejido anómalo.
32. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción de la membrana y, en ocasiones, tinción citoplasmática.
33. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
34. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.



Bioq. Alicia Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

35. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
36. En el epitelio mamario y en otros epitelios secretores normales, el marcado suele localizarse principalmente en las membranas lumbinales apicales. En las neoplasias, la tinción del citoplasma y de la membrana luminal apical son los patrones más frecuentes de inmunorreactividad con la aparición adicional de la tinción de la membrana periférica o de otros patrones (4).
37. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
38. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
39. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
40. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y membranosa. La tinción de la membrana es, preferentemente, basolateral.
41. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
42. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y membranosa.
43. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática granular.
44. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática. En las neuronas, el marcado se manifiesta tanto en el citoplasma como en los procesos.
45. Las células marcadas con el anticuerpo muestran una tinción limitada casi por completo al núcleo con un patrón difuso o granular o una mezcla de ambos. En pocas ocasiones se observa tinción citoplasmática, que puede representar síntesis o degradación citoplasmática. Las células mitóticas suelen mostrar tinción difusa en toda la célula debido a que se pierde la membrana nuclear.
46. Las células marcadas por el anticuerpo muestran una tinción limitada a la membrana celular; sin embargo, se observa una reacción paranuclear de aspecto moteado en los inmunoblastos (1, 2).
47. Las células marcadas por el anticuerpo generalmente muestran un patrón de tinción nuclear, pero también se ha informado de tinción citoplasmática en algunos casos.
48. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
49. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
50. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
51. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

52. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática. En cortes de tejido de colon normal, el CEA se localiza fundamentalmente en el borde apical de las células epiteliales. En los cortes de tejidos de carcinoma de colon, el CEA se localiza principalmente en el borde apical de las estructuras glandulares, mientras que predomina el marcaje citoplasmático en las partes más sólidas del tumor.
53. Los hepatocitos marcados por el anticuerpo presentan un patrón de tinción citoplasmática granular distintiva, que suele ser anular y se presenta en forma difusa en todo el citoplasma de los hepatocitos sin acentuación canalicular.
54. Las células marcadas con el anticuerpo muestran un patrón de tinción citoplasmática.
55. Las células marcadas con el anticuerpo presentan un patrón de tinción nuclear.
56. Las células marcadas con el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
57. Las células marcadas por el anticuerpo muestran un patrón de tinción nuclear, con la excepción de las células mitóticas, en las que se marcan los cromosomas y el citoplasma.
58. Las células foliculares tiroideas normales marcadas con el anticuerpo muestran una ligera tinción granular del citoplasma. En la zona perinuclear, puede observarse un anillo bien definido en la mayoría de las células.
59. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
60. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
61. El patrón de tinción celular es nuclear. También se ha documentado tinción citoplasmática en tejido anómalo.

62. **Cáncer de mama**

En la determinación de la sobreexpresión de la proteína HER2, sólo deben evaluarse la intensidad y el patrón de tinción de la membrana, utilizando la escala presentada en la tabla 2. La evaluación del portaobjetos debe realizarla un patólogo con la ayuda de un microscopio óptico. Para la evaluación de la tinción y la puntuación inmunocitoquímicas, resulta apropiado un objetivo de aumento 10x. El uso de un objetivo de 20–40x aumentos es útil en la confirmación de la intensidad. La tinción citoplasmática debe considerarse como tinción no específica y no se incluirá en la evaluación de la intensidad de tinción de la membrana (8). Para obtener ayuda con la diferenciación de la tinción de 0, 1+, 2+ y 3+, consulte el “HercepTest™ Interpretation Manual – Breast Cancer” de Dako en el que hallará fotografías representativas de las intensidades de tinción.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Sólo deben contabilizarse los especímenes de pacientes con carcinoma de mama invasivo. En los casos con carcinoma in situ y carcinoma invasivo en la misma muestra, sólo debe puntuar el componente invasivo.

Tabla 2: Criterios de intensidad de la tinción de la membrana celular.

<i>Patrón de tinción</i>	<i>Puntuación (Comunicar al médico responsable del tratamiento)</i>	<i>Evaluación de la sobreexpresión de la proteína HER2 (informe al médico tratante)</i>
No se observa tinción o la tinción de la membrana se observa en menos de un 10% de las células tumorales	0	Negativa
Se detecta una tinción de la membrana débil o prácticamente imperceptible en más de un 10% de las células tumorales. Las células sólo presentan tinción en parte de su membrana	1+	Negativa
Se observa una tinción de membrana completa entre débil y moderada en más de un 10% de las células tumorales	2+	Ligeramente positiva
Se observa una tinción de membrana completa fuerte en más de un 10% de las células tumorales	3+	Notablemente positiva

HercepTest™ se interpreta como negativo para la sobreexpresión de la proteína HER2 (con intensidad de tinción 0 y 1+), débilmente positivo (con intensidad de tinción 2+) y altamente positivo (con intensidad de tinción 3+). HercepTest™ no está pensado para ofrecer información de pronóstico a los pacientes y médicos y no se ha validado a este efecto.

Para cada secuencia de tinción, deben examinarse los portaobjetos del modo presentado en la tabla 3 para determinar la validez de la secuencia de tinción y permitir una evaluación semicuantitativa de la intensidad de tinción del tejido muestra.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 3: Orden de evaluación de los portaobjetos.

<i>Orden de lectura de los portaobjetos</i>	<i>Exposición de motivos</i>
1. Portaobjetos de control con tres líneas celulares Portaobjetos de control con tres líneas celulares	La presencia de tinción marrón de la membrana de las células 3+ (reborde) en la línea de células de control 3+ SK-BR-3, reborde marrón parcial en la línea de células de control 1+ MDA-175, y ninguna tinción en la línea de células de control 0 MDA-231, indican que el ensayo es válido. Se observa tinción de membrana punteada y discontinua en un número de pequeño a moderado de las células de la línea de células de control 1+ MDA-175, así como una inmunotinción punteada de la región de Golgi del citoplasma en esta misma línea de células. La presencia de tinción marrón en la línea celular de control 0 MDA-231 (negativa para la tinción de la proteína HER2) indica que no se produjo tinción no específica durante el ensayo. Los resultados del ensayo pueden no ser válidos a causa de una sobretinción.
2. Portaobjetos de tejido de control positivo	Debe observarse presencia de tinción marrón en la membrana. La tinción del citoplasma y los tejidos negativos no debe superar 1+.
3. Portaobjetos de tejido de control negativo	La AUSENCIA de tinción específica en el portaobjeto de tejido de control negativo confirma la inexistencia de reactividad cruzada del kit con las células o los componentes celulares. Si se produce tinción específica de la membrana en el portaobjetos del tejido de control negativo, los resultados de la muestra del paciente deben considerarse no válidos.
4. Portaobjetos con tejido de paciente teñido con reactivo de control negativo	La ausencia de tinción específica de la membrana verifica el marcado específico del antígeno diana por el anticuerpo primario. Cualquier otro tono o tinción marrón que se produzca en el citoplasma de la muestra tratada con el reactivo de control negativo, tal como en tejido conectivo, leucocitos, eritrocitos o tejido necrótico, deberá considerarse como tinción de fondo inespecífica y deberá documentarse en la sección de comentarios de la hoja de datos.
5. Portaobjetos con tejido de paciente teñido utilizando el anticuerpo primario	Cuando se detecta sobreexpresión de la proteína HER2 en la muestra, su aspecto es el de un reborde marrón localizado en la membrana de las células tumorales tratadas con el anticuerpo primario.

1. Portaobjeto de control (suministrado): el portaobjeto de control teñido con HercepTest™ debe examinarse en primer lugar para determinar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción marrón (3,3'-diaminobenzidina, DAB) en la membrana celular indica una reactividad positiva. La presencia de tinción marrón en circunferencia en la membrana celular (desoxidación) en la línea celular de control 3+ SK-BR-3, desoxidación marrón parcial en la línea celular de control 1+ MDA-175 y la ausencia de tinción en la línea celular de control 0 MDA-231 indican la validez del ensayo. Si algunas de las líneas celulares de control muestran



BIOD. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

comportamientos diferentes a los señalados, todos los resultados de los especímenes de pacientes deberán considerarse inválidos.

2. Tejido de control positivo: el portaobjeto del tejido de control positivo deberá examinarse a continuación. Este portaobjeto verifica que el método de fijación y el proceso de recuperación de epítipo son efectivos. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de tinción, puesto que las células necróticas o degeneradas a menudo muestran tinción no específica (25). La tinción debe observarse en el tejido tumoral como una tinción marrón en la membrana celular. La tinción marrón del citoplasma y los tejidos negativos del espécimen no debe superar la puntuación de intensidad de tinción de 1+ correspondiente.

3. Tejido de control negativo: El portaobjetos de tejido de control negativo debe ser examinado contra el tejido de control positivo para verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el tejido de control negativo confirma la inexistencia de reactividad cruzada del kit con las células o los componentes celulares. Si se produce tinción específica en el tejido de control negativo, los resultados del espécimen del paciente deben considerarse inválidos. De forma alternativa, las porciones negativas del tejido de control positivo pueden funcionar igual que el tejido de control negativo, aunque debe verificarlo el usuario. Tenga en cuenta que en la mayoría de tejidos epiteliales normales puede observarse una reacción débil (intensidad de tinción de 0 a 1+). Los posibles tejidos de control negativo incluyen: colon, hígado y tiroides.

La tinción no específica, en su caso, tendrá una apariencia difusa. También es posible que se observe una tinción esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejido excesivamente fijados con formol.

4 + 5. Tejido de paciente: examine en último lugar los especímenes de pacientes teñidos con HercepTest™. Debe evaluarse la intensidad de tinción positiva dentro del contexto de una tinción de fondo no específica del reactivo de control negativo. Igual que con cualquier prueba inmunocitoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, y no que esté ausente de las células o el tejido sometido a ensayo. Consulte los apartados Resumen y explicación, Limitaciones y Características de rendimiento para obtener información específica respecto a la inmunoreactividad de HercepTest™.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Recomendaciones adicionales para la interpretación de la tinción con HercepTest™

La mayoría de carcinomas metastásicos de mama sometidos a prueba para determinar la sobreexpresión de la proteína HER2 reciben una puntuación de 0 ó 3+. Aunque la mayoría de estos casos están perfectamente definidos, un pequeño porcentaje de las muestras 1+ y 2+ restantes pueden resultar más difíciles de interpretar. Utilice las siguientes indicaciones para la interpretación de la tinción de HercepTest™ en su laboratorio.

1. Evalúe las líneas celulares de control para validar el rendimiento del ensayo.
2. Evalúe los portaobjetos de control negativo y positivo.
3. Se recomienda una tinción de hematoxilina y eosina del espécimen del tejido para la primera evaluación. (Puede que el tumor no parezca evidente al observar la muestra teñida con HercepTest™. Se requiere un portaobjeto teñido con hematoxilina y eosina para que el patólogo pueda verificar la presencia del tumor). El HercepTest™ debe realizarse en dos cortes (cortes en serie) procedente del mismo bloque de parafina de la muestra.
4. Evalúe en primer lugar los cortes teñidos para la sobreexpresión de la proteína HER2 a baja potencia. La mayoría de casos positivos serán evidentes con aumento a baja potencia.
5. Las áreas preservadas y teñidas correctamente del espécimen deben utilizarse para realizar una determinación del porcentaje de células tumorales positivas.
6. En general, la puntuación de los casos debería mostrarse evidente con un aumento bajo. Si la determinación de los casos a caballo entre 1+ y 2+ resulta difícil con un aumento bajo, la puntuación suele ser 1+.
7. Para verificar la tinción de membrana, utilice un objetivo de 20 a 40x aumentos.
8. Si la mayoría de las células tumorales muestran una tinción completa de la membrana, la tinción será 2+ ó 3+. Para confirmar la puntuación, utilice un objetivo de 20 a 40x aumentos.
9. En la mayoría de los casos de 3+, por lo menos un 80% de las células tumorales presentan tinción, y la tinción de la membrana es intensa.
10. Si el espécimen se halla cerca del punto de corte del 10% de las células tumorales positivas, se recomienda realizar un recuento de un mínimo de 100 células tumorales para determinar el porcentaje de células teñidas.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

11. Si existe una tinción completa de la membrana con una intensidad entre débil y moderada en un porcentaje de células tumorales superior al 10%, la puntuación del espécimen es 2+. Esto suele venir acompañado de una tinción incompleta de la membrana en la mayoría de las células tumorales restantes.
12. Si menos de un 10% de las células tumorales presenta tinción circunferencial completa de la membrana, aunque otras células tumorales puedan mostrar una tinción completa de la membrana, la puntuación es 1+.
13. Si menos de un 10% de las células tumorales presenta tinción circunferencial completa o incompleta de la membrana, la puntuación es 0.
63. El patrón de tinción celular del anti-IMP3 es predominantemente citoplasmático observándose raramente la tinción del núcleo y de la membrana.
64. El patrón de tinción celular es citoplasmático o membranoso.
65. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y nuclear. En las neuronas, el marcado se manifiesta tanto en el citoplasma como en los procesos.
66. El patrón de tinción celular es citoplasmático y/o membranoso.
67. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
68. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
69. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción nuclear y citoplasmática.
70. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
71. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
72. El patrón de tinción celular es citoplasmático y la luz de los folículos tiroideos y la superficie apical de los tirocitos.
73. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
74. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
75. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
76. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
77. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
78. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y de la membrana.
79. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
80. Las células marcadas por el anticuerpo generalmente muestran tinción nuclear, pero también se ha informado de tinción citoplasmática en algunos casos.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

81. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y de la membrana. En cortes de tejido de colon normal, el CEA se localiza fundamentalmente en el borde apical de las células epiteliales. En cortes de tejido de carcinoma de colon, el CEA se ubica principalmente en el borde apical de las estructuras glandulares, mientras que el marcado citoplasmático predomina en las partes más sólidas del tumor.
82. Los hepatocitos marcados por el anticuerpo presentan una tinción citoplasmática granular distintiva, que suele ser anular y se presenta en forma difusa en todo el citoplasma de los hepatocitos sin acentuación canalicular.
83. Las células marcadas por el anticuerpo muestran un patrón de tinción nuclear, con la excepción de las células mitóticas, en las que se marcan los cromosomas y el citoplasma.
84. El patrón de tinción celular es citoplasmático y membranoso.
85. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática y de la membrana. La tinción de la membrana es, preferentemente, basolateral.
86. El patrón de tinción celular es nuclear. En algunas ocasiones, podría darse tinción citoplasmática inespecífica.
87. El patrón de tinción celular es citoplasmático.
88. El patrón de tinción celular es nuclear. También se ha descrito la tinción citoplasmática en tejido anómalo.
89. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción de la membrana y, en ocasiones, tinción citoplasmática.
90. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.
91. Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.

92. **Cáncer de mama**

Tejidos evaluables

Sólo debe evaluar muestras de pacientes con carcinoma invasivo. En los casos de carcinoma in situ y carcinoma invasivo en la misma muestra, sólo debe evaluarse el componente invasivo. Evite las áreas de necrosis y las áreas donde los bordes nucleares sean ambiguos. No incluya núcleos que requieran un juicio subjetivo. Ignore los núcleos que presenten una intensidad de señal débil y tinción no específica o tinción de fondo alta.

Enumeración de la señal: localice el tumor dentro del contexto del portaobjetos teñido con H&E y evalúe el mismo área en el portaobjetos teñido mediante FISH. Examine



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is partially obscured by a horizontal line. Below it is the text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The signature on the right is also in blue ink and is more complete. Below it is the text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

varias áreas de células tumorales a fin de tener en cuenta una posible heterogeneidad. Seleccione una área que tenga una distribución óptima de núcleos. Comience el análisis en el cuadrante superior izquierdo del área seleccionada y, examinando de izquierda a derecha, cuente el número de señales comprendidas dentro del borde nuclear de cada núcleo evaluado, con arreglo a las pautas siguientes (consulte también el Apéndice 3).

- Acerque y aleje el enfoque para encontrar todas las señales de los núcleos individuales.
- Cuando dos señales sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de la señal, cuente éstas como una sola señal.
- En los núcleos con altos niveles de amplificación del gen HER2, las señales de HER2 pueden estar muy cerca unas de las otras, formando un grupo de señales. En esos casos no es posible contar el número de señales de HER2; en vez de contarlas, debe realizarse una estimación. Debe prestar especial atención a las señales verdes, ya que los grupos de señales de HER2 pueden cubrir las señales verdes, haciéndolas imposibles de ver. En caso de duda, compruebe las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC.

No puntúe los núcleos que no presenten señales o que presenten señales de un solo color. Puntúe sólo los núcleos que presenten una o más señales FISH de cada color.

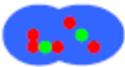


Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Pautas para el recuento de señales

1		No contar. Los núcleos se superponen; no todas las áreas de los núcleos son visibles
2		Dos señales verdes; no puntúe los núcleos que presenten señales de un solo color
3		Contar como 3 señales verdes y 12 señales rojas (estimación del grupo)
4		Contar como 1 señal verde y 1 señal roja. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
5		No contar (núcleos sobre o infradigeridos). Ausencia de señales en el centro del núcleo (núcleo en forma de donut).
6		Contar como 2 señales verdes y 3 señales rojas. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
7		Contar como 1 señal verde y 5 señales rojas.
8		Contar como 3 señales verdes (1 señal verde está fuera de foco) y 3 señales rojas.
9		Grupo de señales rojas que están tapando a señales verdes; comprobar las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC, o no contar.

Registre los recuentos en una tabla. Cuente 20 núcleos por muestra de tejido y, si es posible, de áreas tumorales bien definidas (17).

Calcule la proporción *HER2*/CEN-17 dividiendo el número total de señales rojas de *HER2* entre el número total de señales verdes de CEN-17.

Las muestras que presenten una proporción *HER2*/CEN-17 igual o superior a 2 deben considerarse como amplificadas en cuanto al gen *HER2* (5, 17-19).

Los resultados que estén en el punto de corte (1,8–2,2) o cerca de él deben interpretarse con precaución.

Si la proporción es dudosa (1,8–2,2), cuente 20 núcleos adicionales y vuelva a calcular la proporción para los 40 núcleos.

En caso de duda, vuelva a puntuar el portaobjetos con la muestra. En los casos de proporción dudosa, el patólogo debe consultar con el médico a cargo de los tratamientos


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Cáncer gástrico

Localice el tumor dentro del contexto del portaobjetos teñido con hematoxilina y eosina y evalúe el mismo área en el portaobjetos teñido mediante FISH (en el filtro para DAPI). Solo deben analizarse las de pacientes con adenocarcinoma de estómago, incluida la unión gastroesofágica. En los casos con metaplasia intestinal y adenocarcinoma en la misma muestra, sólo debe contabilizarse el componente de carcinoma gástrico. Evite las áreas de fuerte inflamación, necrosis y las áreas en las que los bordes de los núcleos sean ambiguos. No incluya los núcleos que requieran una valoración subjetiva. No incluya núcleos que presenten una intensidad de señal débil y no específica o tinción de fondo alta.

Comience con la evaluación microscópica del corte completo FISH teñido y el área asignada en el corte teñido con hematoxilina y eosina, respectivamente. Antes de enumerar el portaobjetos teñido mediante FISH, anote la distribución general de la señal (homogénea o heterogénea) en la hoja de enumeración de la señal. Si la distribución es heterogénea, anote si hay amplificación focal o amplificación de célula única (mosaico).

1) Distribución homogénea de la señal

Si la distribución de la señal es homogénea, enumere el número de centrómeros de cromosoma (señales verdes) y el número de genes HER2 (señales rojas), respectivamente, desde 20 células en 1-2 áreas tumorales representativas.

2) Distribución heterogénea de la señal

Si la distribución de la señal es heterogénea, se evaluarán un total de 20 células de áreas seleccionadas, como se indica más abajo:

A) Si existe amplificación focal, se deberán seleccionar las áreas con células amplificadas.

B) Si hay distribución en mosaico o células amplificadas polisómicas y disómicas, se contarán las áreas con células amplificadas. En estas áreas, se debe contar un total de 20 células, no solo la células amplificadas, sino también las células no amplificadas adyacentes.

Si es posible, no seleccione áreas que se superpongan.

Ignorar la tinción de ADN bacteriano

Una serie de células especializadas (mastocitos y macrófagos), presentes entremezcladas en el tejido gástrico, muestran un alto grado de tinción mediante la sonda



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "Biod. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", "APODERADO".

de HER2 debido a la presencia de ADN bacteriano. Como consecuencia aparecen células fluorescentes muy rojas que se distinguen claramente de las células tumorales con una alta amplificación del gen HER2.

Enumeración de la señal

Cuando se ha seleccionado un área para la evaluación de señales, empiece el análisis en uno de los 20 núcleos adyacentes elegidos y cuente célula por célula omitiendo los núcleos que no cumplan los criterios de calidad. Cuente el número de señales comprendidas dentro del borde nuclear de cada núcleo evaluado, con arreglo a las pautas siguientes (consulte también el Apéndice 7).

- Acerque y aleje el enfoque para encontrar todas las señales de los núcleos individuales.
- Cuando dos señales sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia (igual o) inferior al diámetro de la señal, cuente éstas como una sola señal. La distancia tiene que ser al menos igual al diámetro de una señal de tamaño normal con el fin de contar dos señales individuales. Cuando la distancia entre dos señales es menor que el diámetro de una señal se tendrá que contar como una sola.
- En los núcleos con altos niveles de amplificación del gen HER2, las señales de HER2 pueden estar muy cerca unas de las otras, formando un grupo de señales. En esos casos no es posible contar el número de señales de HER2; en vez de contarlas, debe realizarse una estimación. Debe prestar especial atención a las señales verdes, ya que los grupos de señales de rojas HER2 pueden cubrir las señales verdes, haciéndolas imposibles de ver. En caso de duda, compruebe las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC.

No puntúe los núcleos que no presenten señales o que presenten señales de un solo color. Puntúe sólo los núcleos que presenten una o más señales FISH de cada color.

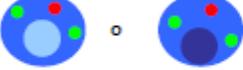


Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Pautas para el recuento de señales

1		No contar. Los núcleos se superponen; no todas las áreas de los núcleos son visibles.
2		Dos señales verdes; no puntúe los núcleos que presenten señales de un solo color.
3		Contar como 3 señales verdes y 12 señales rojas (estimación del grupo).
4		Contar como 1 señal verde y 1 señal roja. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
5		No contar (núcleos sobre o infradigeridos). Ausencia de señales en el centro del núcleo (núcleo en forma de donut).
6		Contar como 2 señales verdes y 3 señales rojas. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
7		Contar como 1 señal verde y 5 señales rojas.
8		Contar como 3 señales verdes (1 señal verde está fuera de foco) y 3 señales rojas.
9		Grupo de señales rojas que están tapando a señales verdes; comprobar las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC, o no contar.

Registre los recuentos en una tabla como la que se indica en el Apéndice 5 y 6.

Cuente 20 núcleos por muestra de tejido, y si es posible, de áreas tumorales bien definidas.

Calcule la proporción *HER2/CEN-17* dividiendo el número total de señales rojas de *HER2* entre el número total de señales verdes de *CEN-17*.

Las muestras que presenten una proporción *HER2/CEN-17* igual o superior a 2 deben considerarse como amplificadas en cuanto al gen *HER2* (26).

Los resultados que estén en el punto de corte (1,8–2,2) o cerca de él deben interpretarse con precaución.

Si la proporción es dudosa (1,8–2,2), cuente 40 núcleos adicionales y calcule la proporción para los 40 núcleos. Si la enumeración todavía es dudosa, el resultado válido será el de la segunda evaluación. Si está disponible, se deberá incluir una tinción inmunohistoquímica de *HER2* para conseguir una mejor orientación durante la segunda enumeración.


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

En caso de duda, vuelva a puntuar el portaobjetos con la muestra. En los casos de proporción dudosa, el patólogo debe consultar con el médico a cargo de los tratamientos.

93. Cancer de mama

Tejidos evaluables

Solo debe evaluar muestras de pacientes con carcinoma invasivo. En los casos con carcinoma in situ y carcinoma invasivo en la misma muestra, solo debe puntuar el componente invasivo. Evite las áreas de necrosis y las áreas donde los bordes nucleares sean ambiguos. No incluya núcleos que requieran un juicio subjetivo. Ignore los núcleos que presenten una intensidad de señal débil y tinción no específica o tinción de fondo alta.

Enumeración de la señal

Localice el tumor dentro del contexto del portaobjetos teñido con H&E y evalúe la misma área en el portaobjetos teñido mediante FISH. Examine varias áreas de células tumorales a fin de tener en cuenta una posible heterogeneidad. Seleccione un área que tenga una distribución óptima de núcleos. Comience el análisis en el cuadrante superior izquierdo del área seleccionada y, examinando de izquierda a derecha, cuente el números de señales comprendidas dentro del borde nuclear de cada núcleo evaluado, con arreglo a las pautas siguientes (consulte también el Apéndice 2).

- Acerque y aleje el enfoque para encontrar todas las señales de los núcleos individuales.
- Cuando dos señales sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de la señal, cuente éstas como una sola señal.
- En los núcleos con altos niveles de amplificación del gen HER2, las señales de HER2 pueden estar muy cerca unas de las otras, formando un grupo de señales. En esos casos no es posible contar el número de señales de HER2; en vez de contarlos, debe calcularlos (realizar una estimación). Debe prestar especial atención a las señales verdes, ya que los grupos de señales de HER2 pueden cubrir las señales verdes, haciéndolas imposibles de ver. En caso de duda, compruebe las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC.

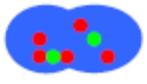
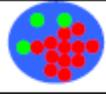
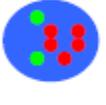
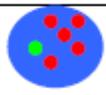
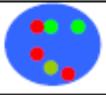
No puntúe los núcleos que no presenten señales o que presenten señales de un solo color. Puntúe solo los núcleos que presenten una o más señales FISH de cada color.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Pautas para el recuento de señales

1		No contar. Los núcleos se superponen; no todas las áreas de los núcleos son visibles.
2		Dos señales verdes; no puntúe los núcleos que presenten señales de un solo color.
3		Contar como 3 señales verdes y 12 señales rojas (estimación del grupo).
4		Contar como 1 señal verde y 1 señal roja. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
5		No contar (núcleos sobre o infradigeridos). Ausencia de señales en el centro del núcleo (núcleo en forma de donut).
6		Contar como 2 señales verdes y 3 señales rojas. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
7		Contar como 1 señal verde y 5 señales rojas.
8		Contar como 3 señales verdes (1 señal verde está fuera de foco) y 3 señales rojas.
9		Grupo de señales rojas que están tapando a señales verdes; comprobar las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC, o no contar.

Cuente 20 núcleos por muestra tisular, y si es posible, de áreas tumorales bien definidas (18).

Calcule la proporción *HER2*/CEN-17 dividiendo el número total de señales rojas de *HER2* entre el número total de señales verdes de CEN-17.

Las muestras que presenten una proporción *HER2*/CEN-17 igual o superior a 2 deben considerarse como amplificadas en cuanto al gen *HER2* (3, 18-20).

Los resultados que estén en el punto de corte (1,8-2,2) o cerca de él deben interpretarse con precaución.

Si la proporción es dudosa (1,8-2,2), cuente 20 núcleos adicionales y vuelva a calcular la proporción para los 40 núcleos.


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

En caso de duda, vuelva a puntuar con la muestra. En los casos de proporción dudosa, el anatomopatólogo debe consultar con el médico a cargo de los tratamientos.

Gástrico

Tejidos evaluables

Localice el tumor dentro del contexto del portaobjetos teñido con H&E y evalúe la misma área en el portaobjetos teñido mediante FISH (en el filtro para DAPI). Solo deben evaluarse las muestras de pacientes con adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica. En los casos con metaplasia intestinal y adenocarcinoma en la misma muestra, solo debe puntuarse el componente de carcinoma gástrico. Evite las áreas de fuerte inflamación, necrosis y las áreas en las que los bordes de los núcleos sean ambiguos. No incluya los núcleos que requieran una valoración subjetiva. No incluya núcleos que presenten una intensidad de señal débil y no específica o tinción de fondo alta.

Comience con una evaluación microscópica de toda la sección FISH teñida y del área asignada en la sección H&E, respectivamente. Antes de enumerar la sección FISH teñida, anote la distribución general de la señal (homogénea o heterogénea) en la hoja de enumeración de la señal. Si la distribución es heterogénea, anote si hay amplificación focal o amplificación de célula única (mosaico).

1) Distribución homogénea de la señal

Si la distribución de la señal es homogénea, enumere el número de centrómeros del cromosoma (señales verdes) y el número de genes HER2 (señales rojas) respectivamente, desde 20 células en 1-2 áreas tumorales representativas.

2) Distribución heterogénea de la señal

Si la distribución de la señal es heterogénea, enumere un total de 20 células de las áreas seleccionadas como se especifica a continuación:

A) Si existe amplificación focal, se deberán seleccionar las áreas con células amplificadas.

B) Si hay distribución en mosaico o células amplificadas polisómicas y disómicas, se contarán las áreas con células amplificadas. Dentro de estas áreas, no solo deben contarse las células amplificadas, sino también las células no amplificadas adyacentes para el total de 20 células.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Si es posible, no seleccione áreas que se superpongan.

Ignorar la tinción de ADN bacteriano

Una serie de células especializadas (mastocitos y macrófagos), presentes y entremezcladas en el tejido gástrico, muestran un alto grado de tinción mediante la sonda de HER2 debido a la presencia de ADN bacteriano. Como consecuencia aparecen células fluorescentes muy rojas que se distinguen claramente de las células tumorales con una alta amplificación del gen HER2.

Enumeración de la señal

Cuando se ha seleccionado un área para la evaluación de señales, empiece el análisis en uno de los 20 núcleos adyacentes elegidos y cuente célula por célula omitiendo los núcleos que no cumplan los criterios de calidad. Localice el tumor dentro del contexto del portaobjetos teñido con H&E y evalúe la misma área en el portaobjetos teñido mediante FISH. Examine todo el portaobjetos teñido para tener en cuenta la posible heterogeneidad. Seleccione un área que tenga una distribución óptima de núcleos. Comience el análisis en el cuadrante superior izquierdo del área seleccionada y, examinando de izquierda a derecha, cuente el número de señales comprendidas dentro del borde nuclear de cada núcleo evaluado, con arreglo a las pautas siguientes (consulte también el Apéndice 5).

- Acerque y aleje el enfoque para encontrar todas las señales de los núcleos individuales.
- Cuando dos señales sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de la señal, cuéntelas como una sola señal. La distancia tiene que ser al menos igual al diámetro de una señal de tamaño normal con el fin de contar dos señales individuales. Cuando la distancia entre dos señales es menor que el diámetro de una señal se tendrá que contar como una sola.
- En los núcleos con altos niveles de amplificación del gen HER2, las señales de HER2 pueden estar muy cerca unas de las otras, formando un grupo de señales. En esos casos no es posible contar el número de señales de HER2; en vez de contarlos, debe calcularlos (realizar una estimación). Debe prestar especial atención a las señales verdes, ya que los grupos de señales de HER2 rojas pueden cubrir las señales verdes, haciéndolas imposibles de ver. En caso de duda, compruebe las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC.

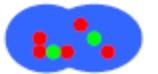


Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

No puntúe los núcleos que no presenten señales o que presenten señales de un solo color. Puntúe solo los núcleos que presenten una o más señales FISH de cada color.

Pautas para el recuento de señales

1		No contar. Los núcleos se superponen; no todas las áreas de los núcleos son visibles.
2		Dos señales verdes; no puntúe los núcleos que presenten señales de un solo color.
3		Contar como 3 señales verdes y 12 señales rojas (estimación del grupo).
4		Contar como 1 señal verde y 1 señal roja. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
5		No contar (núcleos sobre o infradigeridos). Ausencia de señales en el centro del núcleo (núcleo en forma de donut).
6		Contar como 2 señales verdes y 3 señales rojas. Dos señales que sean del mismo tamaño y estén separadas por una distancia igual o inferior al diámetro de una señal se cuentan como una sola señal.
7		Contar como 1 señal verde y 5 señales rojas.
8		Contar como 3 señales verdes (1 señal verde está fuera de foco) y 3 señales rojas.
9		Grupo de señales rojas que están tapando a señales verdes; comprobar las señales verdes utilizando un filtro específico para FITC, o no contar.

Cuente 20 núcleos por muestra tisular, y si es posible, de áreas tumorales bien definidas. Calcule la proporción HER2/CEN-17 dividiendo el número total de señales rojas de HER2 entre el número total de señales verdes de CEN-17.

Las muestras que presenten una proporción HER2/CEN-17 igual o superior a 2 deben considerarse como amplificadas en cuanto al gen HER2 (29).

Los resultados que estén en el punto de corte (1,8-2,2) o cerca de él deben interpretarse con precaución.

Si la proporción es dudosa (1,8-2,2), cuente 40 núcleos diferentes y calcule la proporción para los 40 núcleos. Si la enumeración todavía es dudosa, el resultado válido será el de la segunda evaluación. Si está disponible, se deberá incluir la tinción


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

inmunohistoquímica de HER2 para conseguir una mejor orientación durante la segunda enumeración.

En caso de duda, vuelva a puntuar con la muestra. En los casos de proporción dudosa, el anatomopatólogo debe consultar con el médico a cargo de los tratamientos.

13. Características de los resultados

Modelo #:

1. Tejidos normales: En un embrión humano de 20 días, el anticuerpo marca las células endodérmicas de la superficie interna del saco vitelino. También se observa en la AFP amniótica.

Tejidos anómalos: Se analizaron con el anticuerpo 189 muestras de orquidectomía con tumores de células germinales (95 seminomas puros y 94 no seminomas). Todos los seminomas resultaron AFP no reactivos, mientras que el 66% de los no seminomas presentaron tinción positiva a la AFP. Se marcaron el 21% de los carcinomas embrionarios puros (EC), el 25% de los componentes EC en tumores mixtos, todos los componentes de tumores del saco vitelino, el 20% de los teratomas puros (T) y el 47% de los componentes T. El carcinoma in situ en los túbulos seminíferos adyacentes a los tumores nunca presentó tinción para AFP. En el cáncer de estómago con altas concentraciones séricas de AFP, el anticuerpo marcó 19/35 (54%) (2). Grupos dispersos de células mononucleares fueron marcados en 11/14 (74%) de los tumores del saco vitelino y 7/52 (33%) de los carcinomas embrionarios. También se observó AFP intracitoplasmática en células epiteliales glandulares en 5/12 (42%) de los teratomas. No se marcaron ninguno de los 24 coriocarcinomas ni de los 50 seminomas/disgerminomas.

2. Tejidos normales: En la placenta del primer trimestre, el anticuerpo marca abundantes gránulos citoplasmáticos de los sincitiotrofbastos, algunos de ellos con exocitosis.

Tejidos anómalos: Se analizaron con el anticuerpo 189 muestras de orquidectomía con tumores de células germinales (95 seminomas puros y 94 no seminomas). Se demostró hCG en todos los componentes de coriocarcinomas en las células sincitiotrofbásticas y en las de tipo sincitiotrofbástico en un 8% de seminomas y en un 30% de no seminomas. El carcinoma in situ presente en los túbulos seminíferos adyacentes a los tumores fue marcado para la hCG en unos pocos casos.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

3. Tejidos normales: El anticuerpo marca la Tg en los folículos tiroideos y en la superficie apical de los tirocitos. La tiroglobulina se encuentra en las células foliculares de la glándula tiroidea y, en menor medida, en el tejido intersticial y el estroma tiroideo debido a la filtración normal.

Tejidos anormales: En 42 casos de carcinoma tiroideo primario, se observó marcado con el anticuerpo en 7/7 casos de carcinoma papilar (en algunos casos solo se observó tinción a lo largo de la superficie apical, mientras que otros mostraron una tinción citoplasmática difusa) y en 16/16 casos de carcinoma folicular, independientemente del patrón histológico, 10/14 casos de carcinomas de células gigantes y fusocelulares se tiñeron solo débilmente, y se marcaron 0/5 casos de carcinoma medular. No se marcó ninguno de los 38 casos de carcinomas con metástasis tiroidea, incluidos los de riñón, pulmón, paratiroides, ovario y mama, así como los angiosarcomas primarios tiroideos y los sarcomas de tejido blando del cuello que se extendieron a la glándula tiroidea. En otro estudio, se observó que el anticuerpo marcó 10/10 casos de carcinoma tiroideo bien diferenciado, cinco papilares y cinco foliculares, mientras que marcó 0/53 casos de tumor tiroideo anaplásico de células pequeñas, incluidos 21 considerados linfomas, 13 considerados carcinomas anaplásicos y 19 considerados tumores anaplásicos de histogénesis incierta. El anticuerpo marcó 0/16 casos de carcinoma indiferenciado, incluidos 12 de tipo fusocelular y 4 mixtos de células gigantes y fusocelulares, y 0/18 casos de hemangioendotelioma maligno (MHE) de tiroides. En el carcinoma de tiroides de tipo intermedio, el anticuerpo marcó más del 50% de las células tumorales en 9/18 casos, 25-50% de las células tumorales en 6/18 casos, menos del 25% de las células tumorales o células dispersas en 3/18 casos.

4. Tejidos normales: la oncoproteína c-erbB-2 es un componente del tejido normal y el anticuerpo puede marcar débilmente a las células epiteliales normales. El epitelio escamoso del esófago y las amígdalas pueden, en algunos casos, presentar una tinción moderada. El tejido de la glándula prostática también se ha mostrado moderadamente positivo. En cambio, una amplia variedad de otros tejidos normales, como las glándulas suprarrenales, la médula ósea, el cerebro, el corazón, el hígado, el pulmón, el tejido muscular esquelético, la piel, el bazo, el timo y la glándula tiroidea se han mostrado negativos.

Tejidos anormales: en un estudio, 13 de 59 carcinomas mamarios, 8 de 29 adenocarcinomas pulmonares, 10 de 58 adenocarcinomas colorrectales, 6 de 56 adenocarcinomas escamosos pulmonares y 7 de 62 adenocarcinomas gástricos mostraron sobreexpresión de la



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

oncoproteína c-erbB-2 (tinción completa de la membrana - entre leve y fuerte - en más del 10% de las células tumorales) al probarse con el anticuerpo. En otro estudio, 101 de 177 carcinomas de células transicionales de la vejiga urinaria mostraron sobreexpresión de la oncoproteína c-erbB-2. En adenocarcinomas endometriales del tipo endometriode, 15 de 112 sobreexpresaron la oncoproteína c-erbB-2. No se observó sobreexpresión en 30 adenocarcinomas renales, 12 carcinomas hepatocelulares y 17 melanomas malignos.

5. Tejidos normales: En el estómago, las células G del antro pilórico muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción. El anticuerpo no marca las células epiteliales.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 12/12 gastrinomas duodenales, 5/5 gastrinomas pancreáticos, 8/8 gastrinomas en ganglios linfáticos peripancreáticos y periduodenales e hígado sin tumor primario conocido. En otro estudio, el anticuerpo marcó 3/11 tumores endocrinos pancreáticos.

6. Tejidos normales: El anticuerpo marca las células C parafoliculares de la glándula tiroides. No se observa un marcado resultados en la glándula suprarrenal.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marca los carcinomas medulares de tiroides. Además, el anticuerpo marcó 6/28 feocromocitomas, 7/37 carcinoides de duodeno, 2/24 carcinoides gástricos, y células tumorales en 11/15 casos; y células de superficie en 2/15 casos de hemangioma esclerosante de pulmón. No se observó marcado en 27 casos de carcinomas corticosuprarrenales.

7. Tejidos normales: En un embrión humano de 20 días, el anticuerpo marca las células endodérmicas de la superficie interna del saco vitelino. También se observa en la AFP amniótica.

Tejidos anómalos: Se analizaron con el anticuerpo 189 muestras de orquidectomía con tumores de células germinales (95 seminomas puros y 94 no seminomas). Todos los seminomas resultaron AFP no reactivos, mientras que el 66% de los no seminomas presentaron tinción positiva a la AFP. Se marcaron el 21% de los carcinomas embrionarios puros (EC), el 25% de los componentes EC en tumores mixtos, todos los componentes de tumores del saco vitelino, el 20% de los teratomas puros (T) y el 47% de los componentes T. El carcinoma in situ en los túbulos seminíferos adyacentes a los tumores nunca presentó tinción para AFP. En el cáncer de estómago con altas concentraciones séricas de AFP, el anticuerpo marcó 19/35 (54%). Focalmente, las células neoplásicas del carcinoma embrionario muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte. Grupos dispersos de



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

células mononucleares fueron marcados en 11/14 (74%) de los tumores del saco vitelino y 7/52 (33%) de los carcinomas embrionarios. También se observó AFP intracitoplasmática en células epiteliales glandulares en 5/12 (42%) de los teratomas. No se marcaron ninguno de los 24 coriocarcinomas ni de los 50 seminomas/disgerminomas.

8. Tejidos normales: Se observa marcado con el anticuerpo en algunas células de Langerhans y melanocitos de la piel, células reticulares interdigitantes en ganglios linfáticos, células reticulares epiteliales medulares en el timo, condrocitos en tejido cartilaginoso, adipocitos en algunas células mioepiteliales en glándulas salivales y mamas, pero no en otras biopsias, células foliculares estrelladas de la glándula pituitaria y células de Schwann y gliales del tejido nervioso. Las células epiteliales de las glándulas mamaria y sudoríparas presentan un marcado débil. No se observa inmunorreactividad con el anticuerpo en hepatocitos normales, epitelio del conducto biliar, epitelio de vesícula biliar, epitelios de esófago, estómago e intestinos delgado y grueso, epitelio renal y células uroteliales y endoteliales (9). En el colon, las células satelitales de los nervios periféricos del plexo de Auerbach muestran una reacción de tinción nuclear y citoplasmática de moderada a fuerte, mientras que los adipocitos y las células ganglionares del plexo de Auerbach muestran una reacción nuclear y citoplasmática de leve a moderada.

Tejidos anormales: De los melanomas malignos, el anticuerpo marcó 31/31 (100%) melanomas cutáneos convencionales, 23/24 (96%) metastásicos, incluidos 10 amelanóticos, 6/6 desmoplásicos y 1/1 malignos mixoides. En 30 nevos benignos y 15 displásicos, se observó marcado homogéneo universal en todos los casos. En otro estudio de melanomas cutáneos malignos primarios, 67/67 (100%) se marcaron con el anticuerpo, incluidos 5/5 tumores desmoplásicos y de células fusiformes. En 27 casos de histiocitosis de Langerhans, el anticuerpo marcó el 88,5%, tanto en caso de enfermedad localizada como diseminada. En los 30 condroblastomas examinados se observó un marcado fuerte de los condroblastos con el anticuerpo. De los schwannomas benignos típicos, el anticuerpo marcó 12/12, y también 2/4 schwannomas malignos. De los neurofibromas, 6/6 mostraron una expresión leve de la S100, excepto en algunas células aisladas y en varios procesos de células de tipo anguila que resultaron claramente marcadas. Cabe resaltar que la S100 se expresó en 15/133 neoplasias cutáneas primarias no melanocíticas, esto es, 7/16 carcinomas de glándulas ecrinas, 2/8 carcinomas viscerales metastásicos, 2/2 schwannomas malignos y 4/5 leiomiomas. De los adenocarcinomas primarios, el anticuerpo marcó 24/25 (84%)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

adenocarcinomas ováricos, 12/15 (80%) de glándulas salivales, 28/36 (78%) de endometrio, 15/23 (65%) renales, 12/20 (60%) mamarios, 7/28 (25%) de colon/recto, 2/10 (20%) de estómago y 2/27 (7%) pulmonares. En este estudio no se marcaron los adenocarcinomas de esófago, vesícula biliar, páncreas y próstata. La mayoría de las neoplasias primarias que expresaron S100 también se tiñeron para esta proteína en focos metastásicos (10). De los rhabdomyosarcomas, este anticuerpo marcó 7/60 (12%). Los tumores marcados con S100 también se tiñeron para vimentina y desmina.

9. Tejidos normales: El anticuerpo marca la Tg en los folículos tiroideos y en la superficie apical de los tirocitos. La tiroglobulina se encuentra en las células foliculares de la glándula tiroidea y, en menor medida, en el tejido intersticial y el estroma tiroideo debido a la filtración normal.

Tejidos anormales: En las glándulas hiperplásicas, se ha detectado la tiroglobulina en folículos y en las células glandulares de los folículos más pequeños. Este anticuerpo tiñó los carcinomas papilares, foliculares y medulares que producen múltiples hormonas. También se ha detectado la tiroglobulina en los carcinomas foliculares de células claras mientras que no se marcaron otras neoplasias de células claras. También han sido reactivas algunas células fusiformes anaplásicas y de carcinomas de células gigantes. Los sarcomas o los carcinomas metastásicos no se marcaron.

10. Tejidos normales: El anticuerpo marca las células C parafoliculares de la glándula tiroidea. No se observa un marcado en la glándula suprarrenal.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó los carcinomas medulares de tiroidea. Además, el anticuerpo marcó 6/28 feocromocitomas, 7/37 carcinoides de duodeno, 2/24 carcinoides gástricos, y células tumorales en 11/15 casos; y células de superficie en 2/15 casos de hemangioma esclerosante de pulmón. No se observó marcado en 27 casos de carcinomas corticosuprarrenales.

11. Tejidos normales: En el estómago, las células G del antro pilórico muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción.

El anticuerpo no marca las células epiteliales.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 12/12 gastrinomas duodenales, 5/5 gastrinomas pancreáticos, 8/8 gastrinomas en ganglios linfáticos peripancreáticos y periduodenales e hígado sin tumor primario conocido. En otro estudio, el anticuerpo marcó 3/11 tumores endocrinos pancreáticos.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

12. Tejidos normales: El anticuerpo marca los astrocitos del cerebro, las células foliculoestrelladas de la hipófisis, las células de Schwann y las células gliales entéricas. Además, se marcan las células mioepiteliales de la mama. En el cerebro, los astrocitos muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte. En el colon, las células ganglionares y los plexos de Auerbach y Meissner muestran una reacción de tinción de débil a moderada. No se observa tinción en la vejiga, en el tejido conectivo, hígado, tejido linfático, músculo, páncreas, piel y uréter.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó la totalidad de los 23 glioblastomas multiformes (GBM). En 20 de los 23 GBM, como mínimo el 50% de las células malignas marcaron para GFAP. Solo se marcaron 3 de los 22 casos de carcinoma metastásico del cerebro.

Este marcado resultó focal y limitado a menos del 10% de las células malignas. 5/5 astrocitomas hemisféricos del tipo granular raro mostraron positividad focal respecto a GFAP con el anticuerpo, que también marcó 7/7 xantastrocitomas pleomórficos, así como las células foliculoestrelladas del lóbulo anterior en 20/20 neoplasias de hipófisis. En meduloblastomas (MB) de la “variante desmoplásica”, el anticuerpo marcó 8/11 casos. El marcado se presentó como áreas locales de las células marcadas para GFAP con morfología neoplásica. Solo 4/31 MB de la “variante clásica” presentaron este tipo de células neoplásicas, pero en los MB clásicos, se observaron células marcadas para GFAP con la morfología de astrocitos reactivos en 27/31 casos. De igual forma, el anticuerpo marcó 15/38 schwannomas (38%) y 2 casos de neurofibroma plexiforme, mientras que 16 casos de neurofibroma dérmico resultaron no reactivos. En diversos trastornos neoplásicos y no neoplásicos de mama, el porcentaje de células mioepiteliales reactivas con el anticuerpo aumentó en gran medida, en comparación con la mama normal, mientras que no se encontró marcado en las células malignas de 183 carcinomas de distintos tipos. El anticuerpo no marcó los meningiomas en un estudio que incluyó a 36 pacientes.

13. Tejidos normales: En cortes de colon normal, el anticuerpo marca algunos axones en haces de axones de los plexos de Auerbach y Meissner, mientras que los pericariones de las células ganglionares no se inmunotiñen. Los axones grandes en el plexo de Auerbach muestran una reacción de tinción moderada a fuerte, mientras que los axones aislados en la muscularis externa muestran una reacción de tinción leve a moderada.

Tejidos anormales: En los gangliogliomas, el anticuerpo marcó los procesos neuronales en 10 de 13 tumores, mientras que en solo 5 de los casos, se observó una tinción significativa



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

en los pericariones neuronales. En un estudio inmunohistoquímico de los filamentos intermedios en el carcinoma de células de Merkel, 2 de 8 casos fueron positivos. Este clon no marca los neuroblastomas.

14. Tejidos normales: El anticuerpo marca la capa basal de la epidermis (marcado de células diseminadas), células de Merkel, glándulas sebáceas, vaina radicular externa de folículos pilosos, espiral secretora y células ductales lumbinales de las glándulas sudoríparas ecrinas, epitelio escamoso no queratinizado de la laringe, mesotelio, células epiteliales ciliadas columnares y basales de los bronquios, células del revestimiento alveolar, células basales y cuboidales de la glándula parótida, células basales, acinares y ductales de las glándulas salivales menores, células basales del esófago, células neuroendocrinas y secretoras del estómago, vellosidad y epitelio de la cripta del intestino delgado, epitelio del colon, epitelio acinar y ductal del páncreas, epitelio del conducto biliar, epitelio de vesícula biliar, células columnares de los lóbulos y ductos mamarios, células columnares y de reserva endocervicales, células basales ectocervicales, epitelio glandular endometrial, citotrofoblasto de la placenta, epitelio ductal, células basales y vesículas seminales de la próstata, rete testis, epitelio de la cápsula de Bowman, túbulos distales/proximales y asa de Henle, epitelio transicional de la vejiga, y epitelio folicular de la glándula tiroides. En el hígado, las células epiteliales de los conductos biliares muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción citoplasmática, mientras que las células hepáticas son negativas. En las amígdalas, las células epiteliales escamosas muestran focalmente una reacción de débil a moderada a la tinción citoplasmática, que es más fuerte en la capa basal.

Tejidos anómalos: 4/4 carcinomas de epidermis de células basales y 3/3 carcinomas de células escamosas queratinizados bien diferenciados de epidermis, 1/1 queratoacantoma, 1/3 y 1/2 carcinomas bien diferenciados no queratinizados de células escamosas del labio y de la lengua respectivamente, 1/5 carcinomas de células escamosas de lengua moderadamente diferenciados y 1/1 escasamente diferenciados, 1/1 papiloma y 3/3 papilomas invertidos de nasofaringe, 1/3 carcinomas de células escamosas de laringe bien diferenciados, 3/4 moderadamente diferenciados y 1/1 mal diferenciado, 7/7 carcinomas de células escamosas, 4/4 adenocarcinomas, 1/1 carcinoma adenoescamoso y 5/5 carcinomas pulmonares de células pequeñas de la vía respiratoria, 5/5 adenomas pleomórficos, 3/3 carcinomas mucoepidermoides y 1/1 carcinoma de células acínicas de la glándula parótida, 6/6 carcinomas de células escamosas del esófago, 4/4 adenocarcinomas, 2/2 carcinoides y



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

1/1 metástasis en ganglio linfático en el estómago, 1/1 adenocarcinoma de intestino delgado, 1/1 carcinoide de apéndice, 11/11 adenocarcinomas, 2/2 metástasis de ganglios linfáticos y 1/1 carcinoide de colon, 7/7 adenocarcinomas de páncreas, 6/6 carcinomas colangiocelulares, 12/12 carcinomas ductales, 4/4 carcinomas lobulares, 2/2 metástasis de ganglios linfáticos y 4/4 carcinomas combinados ductal/lobular de mama, 2/2 enfermedad de Paget, 11/11 cistadenocarcinomas, 2/2 carcinomas de células claras y 7/7 carcinomas endometrioides de ovario, 1/1 tumor de Brenner maligno, 4/4 carcinomas de células escamosas, 12/12 adenocarcinomas, 8/8 carcinomas de cuello uterino de células adenoescamosas y 2/2 de células claras, 13/13 carcinomas endometrioides y 3/3 carcinomas adenoescamosos de endometrio, 5/5 carcinomas de células escamosas de la vulva bien diferenciados y 1/4 moderadamente diferenciados, 8/8 adenocarcinomas de próstata, 3/3 teratomas malignos, 2/2 coriocarcinomas, 6/6 carcinomas de células renales, 9/9 carcinomas de vejiga urinaria, 8/8 carcinomas de glándula tiroides, 1/1 adenoma cromóforo y 1/1 adenoma acidófilo de la glándula pituitaria, 4/4 astrocitomas, 4/4 meningiomas y 5/13 leiomiomas (1). En otro estudio, el anticuerpo marcó 5/8 lesiones de mama malignas medulares, 26/28 invasivas ductales, 4/4 invasivas lobulares, 5/5 mucinosas y 2/2 tubulares, así como a 12/14 fibroadenomas, 5/5 tumores Phyllodes, 3/3 adenomas tubulares, 1/1 hamartoma, 3/4 papilomas intraductales, 8/8 ginecomastias y 5/5 cambios fibroquísticos de mama.

15. Tejidos normales: En el mesotelio normal y reactivo, el anticuerpo marcó 0/40 casos, y en 27 mesoteliomas, las células normales, como por ejemplo los fibroblastos y células endoteliales, fueron negativas. En el colon, solo las células epiteliales basales benignas diseminadas muestran una reacción de débil a moderada a la tinción nuclear.

Tejidos anormales: En el linfoma folicular se observó una creciente acumulación de p53 en centroblastos con una progresión morfológica que derivó en el marcado de 1/16 casos de grado I, 10/21 casos de grado II y 6/6 casos de grado III. En los mesoteliomas, el anticuerpo marcó 7/26 casos de tipo epitelial (1 a 25% de células marcadas), 1/7 casos de tipo mixto (25 a 50% de células marcadas) y 1/3 casos de tipo mesenquimal (más del 75% de células marcadas). Las células neoplásicas en adenocarcinoma de colon muestran una reacción a la tinción nuclear de moderada a fuerte.

16. Tejidos normales: En general, el anticuerpo marca epitelios simples y el epitelio transicional y no componentes epiteliales estratificados, que son negativos. El marcado



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

incluye epitelios simples de intestino, ramificación bronquial y alvéolos del sistema respiratorio, túbulos renales, conductos biliares, mucosa superficial del endometrio y endocervical, epitelio de las trompas de Falopio y red epitelial de testículo y ovario. Además, el anticuerpo marca los hepatocitos y los acinos pancreáticos. También marca los epitelios glandulares complejos mamarios, salivales y de glándulas sudoríparas, así como el epitelio transicional de la vejiga urinaria. Además, se marcan las células epiteliales del periodonto. De las células no epiteliales, el anticuerpo marca las células endoteliales en vénulas, sistema linfático y capilares en tejidos tales como piel, tejidos blandos subcutáneos, músculo esquelético, placenta y, por ejemplo, la mucosa de las vías respiratorias, el tubo digestivo y el tracto genital. No se observó marcado en los tejidos epiteliales que carecen de CK18, por ejemplo, epidermis, epidermis de la planta del pie, vagina, exocérnix, esófago y células mioepiteliales. En el hígado, las células epiteliales de la bilis muestran una tinción de moderada a fuerte, mientras que las membranas de las células hepáticas muestran una reacción de débil a moderada.

Tejidos anómalos: En tumores de páncreas, el anticuerpo marcó 6/6 carcinomas de células acinares, 1/1 pancreatoblastoma, 19/20 tumores neuroendocrinos pancreáticos, y 10/19 tumores sólidos pseudopapilares. Además, el anticuerpo marcó 30/30 sarcomas sinoviales bifásicos, 21/46 monofásicos, y 8/17 mal diferenciados (10). En tumores vasculares, el anticuerpo marcó células endoteliales en 17/17 hemangioendoteliomas epitelioides, 9/14 angiosarcomas epitelioides, 6/10 hemangiomas de células fusiformes, 2/7 linfangiomas, 10/48 angiosarcomas no epitelioides, 3/13 hemangiomas venosos, y 1/18 hemangiomas capilares. No se observó marcado en 4 hemangiomas cavernosos ni en 6 sarcomas de Kaposi (2). Las pruebas realizadas con el anticuerpo en seminoma, carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma de células de Merkel y carcinoma de mama invasivo mostraron inmunorreacción.

17. Tejidos normales: El anticuerpo marca sistemáticamente un gran número de epitelios simples, complejos y transicionales, como los conductos biliares y pancreáticos, alvéolos pulmonares, endometrio, túbulos contorneados distales y conductos colectores del riñón (epitelios simples), epitelio bronquial y bronquiolar, conductos de la próstata, células luminales de la trompa de falopio y cuello uterino, glándulas bronquiales, mamarias, salivares, sudoríparas y endocervicales, trofoblastos placentarios (epitelios complejos) y todas las capas de células de urotelio (epitelio transicional). Además, el anticuerpo marca el



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

mesotelio ovárico, lo que también se observó en las células luminales y basales de la próstata y en células mioepiteliales. En el páncreas, las células epiteliales de los conductos acinares grandes muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte, mientras que las células epiteliales de los conductos pancreáticos intercalados muestran una reacción de débil a moderada.

Tejidos anómalos: En el ovario humano, el anticuerpo marcó 12/12 tumores quísticos simples, 12/12 cistadenomas y 60/60 carcinomas. Además, marcó 6/6 carcinomas endometriales, 4/4 endocervicales, 3/3 mamarios y 3/3 de tiroides. En el pulmón humano, el anticuerpo marcó 20/20 de adenocarcinomas de distintos grados, incluso 4 carcinomas bronquioloalveolares, mientras que no marcó 24/24 casos de carcinomas de células escamosas, al igual que 6/6 casos de carcinomas de células anaplásicas grandes y 10/10 casos de mesoteliomas. En el aparato digestivo humano, el anticuerpo marcó 5/6 adenocarcinomas de distintos grados y 3/3 carcinomas de células en anillo de sello poco diferenciados en el estómago, y 1/1 carcinoma del páncreas, mientras que no marcó los carcinomas anaplásicos de estómago, intestino delgado y recto así como los adenocarcinomas de colon de distintos grados. El anticuerpo marcó 6/6 carcinomas renales de células cromóforas mientras que no marcó 8/11 oncocitomas.

18. Tejidos normales: El anticuerpo marca las células suprabasales del epitelio del esófago fijados con formol y las células basales de la mucosa bronquial. En el cuello uterino, el anticuerpo marca las células de reserva endocervicales. En la mama, el anticuerpo marca la capa basal del epitelio ductal mamario. En la piel, las células mioepiteliales de las glándulas sudoríparas muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción citoplasmática, mientras que las células epiteliales escamosas son negativas.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó células queratinizadas en 10/22 casos de carcinoma invasivo de esófago. En la laringe marcó la displasia y el carcinoma de células escamosas. El anticuerpo marcó las células basales y suprabasales en la hiperplasia de células basales, así como en las capas celulares apicales, intermedias y basales en la metaplasia de células escamosas de la mucosa bronquial. En un estudio de cáncer cervical, el anticuerpo marcó la metaplasia escamosa inmadura así como los carcinomas de células escamosas queratinizantes y no queratinizantes. En diferentes subtipos de adenocarcinomas de páncreas, el anticuerpo marcó 38/46 casos de carcinoma ductal pancreático, 5/6 casos de ampuloma de origen pancreaticobiliar, 17/24 casos de colangiocarcinoma intrahepático,



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

mientras que el anticuerpo solamente 8/184 casos de adenocarcinoma no mucinoso de extrapancreaticobiliar. En el carcinoma de mama, el anticuerpo marcó 75/532 casos.

19. Tejidos normales: El anticuerpo marca el colon normal. Las células epiteliales de la mucosa colónica muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción en la superficie luminal y el glucocálix. En las amígdalas, las células epiteliales escamosas muestran focalmente una reacción de débil a moderada a la tinción citoplasmática.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 6/6 carcinomas de colon, 2/2 carcinomas de vesícula biliar y 2/3 carcinomas de la ampolla de Vater.

Además, el anticuerpo marcó 31/31 meningiomas secretores. Las pruebas realizadas con el anticuerpo sobre carcinomas medulares de tiroides presentaron inmunoreacción. El anticuerpo marcó 9/11 casos de adenocarcinoma pulmonar residual. No se observó reactividad en nueve mesoteliomas.

20. Tejidos normales: en el hígado el anticuerpo marca los hepatocitos. No parece haber ninguna preferencia de zona en el hígado normal, pero en los sitios inmediatamente adyacentes a los tumores puede observarse una disminución del marcado en hepatocitos comprimidos. No se observa marcado de conductos biliares o células no parenquimatosas. Son negativos casi todos los tumores de piel, músculo liso y esquelético, mesotelio, ganglios linfáticos, bazo, pulmón, mama, esófago, estómago, intestino, páncreas, vías biliares, riñón, vejiga urinaria, glándula suprarrenal, próstata, endometrio y ovario. Las raras excepciones son un marcado focal, pero muchas veces fuerte, de la mucosa del intestino delgado en una minoría de casos. Los hepatocitos presentan una reacción de moderada a fuerte a la tinción. Tejidos anómalos: de los carcinomas hepatocelulares primarios (HCC), 37/38 fueron marcados por el anticuerpo. De los HCC marcados, 4 solo mostraron raramente células marcadas. El caso no marcado fue un HCC esclerosante. Se observó una variación considerable de un área a otra en los HCC marcados. De las metástasis de HCC, 4/5 se marcaron. En otro estudio que comprendió 65 tumores hepáticos y 2 tumores extrahepáticos de pacientes con tumores hepáticos comprobados, el anticuerpo mostró una sensibilidad del 82% y una especificidad del 90% para la clasificación de neoplasias hepatocelulares. El anticuerpo marcó 12/12 hepatoblastomas, mientras que no marcó 26/26 tumores pediátricos seleccionados, entre ellos 5 tumores de células germinales, 4 tumores neuroectodérmicos periféricos/sarcomas de Ewing, 3 rabdosarcomas, 5 neuroblastomas, 2 tumores rabdoideas, 3 linfomas y 4 tumores de Wilms. Se observó marcado focal para el anticuerpo en 6/7



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

adenocarcinomas hepatoides del tubo digestivo. Estos tumores infrecuentes también expresaron la fetoproteína alfa-1 y CEA.

21. Tejidos normales: Las células del cuello mucoso y las células de la cripta profunda del intestino delgado y del colon, así como las células centrogerminales de las placas de Payer, son positivas con el anticuerpo. Las células del epitelio superficial y otras células mucosas, por ejemplo las células de Paneth y las células del tejido conectivo submucoso, son negativas. Las células musculares también son negativas, con la excepción de unas pocas células positivas en los músculos lisos. El riñón, el hígado, el páncreas y el cerebro son negativos.

En amígdala, las células B del centro germinal de la zona oscura muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte, mientras que las células B del centro germinal de la zona clara muestran una reacción a la tinción de débil a moderada.

Tejidos anormales: En un estudio de 322 carcinomas de mama invasivos ductales, se observó una tinción citoplasmática o membranosa. El anticuerpo marcó 24/24 carcinomas de próstata.

22. Tejidos normales: El anticuerpo marca células mesoteliales normales, células nerviosas y células reticulares del colon. De los otros tejidos normales analizados, no se observó tinción en epitelio escamoso simple, riñón, hígado, páncreas, próstata y amígdala. En el colon, las células ganglionares de los nervios periféricos muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte, mientras que los axones de los nervios periféricos muestran una reacción a la tinción de leve a moderada.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 51/70 mesoteliomas epiteliales, 2/118 adenocarcinomas y 28/53 carcinomas de mama.

23. Tejidos normales: el anticuerpo marca células epiteliales en una gran variedad de tejidos y células mesoteliales. Entre ellos se encuentran los conductos sudoríparos y las glándulas sebáceas de la piel, el epitelio del tubo digestivo, ácinos y conductos mamarios, células exocrinas del páncreas, epitelio de la vejiga, túbulos distales del riñón, cuello uterino, endometrio, epitelio de vías respiratorias, conductos biliares y tiroideos. No se observó marcado en epidermis, células endocrinas del páncreas, glomérulos y túbulos proximales del riñón, sistema nervioso central, sistema nervioso periférico, tejido conectivo, hepatocitos y tejido linfóide, con excepción de células plasmáticas ocasionales.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the printed text: "Bco. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is also in blue ink and is followed by the printed text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

Tejidos anómalos: los adenocarcinomas de riñón, mama, colon, estómago, páncreas, pulmón, endometrio y ovario resultaron todos marcados con el uso inmunocitoquímico del anti-EMA E29. Los patrones de tinción fueron principalmente citoplasmáticos, pero también se observó reactividad apical y tinción luminal intracelular y membranosa periférica. También resultaron marcados por el anticuerpo los carcinomas anaplásicos de células escamosas, transicionales y pequeñas, y los mesoteliomas. El anticuerpo también mostró reactividad con tumores somáticos, carcinomas de células renales, meningiomas, cordoma clásico y carcinoma neuroendocrino (célula de Merkel). Los tumores y neoplasias sin reactividad al anti-EMA, E29 son: carcinoma de células basales, seminomas, carcinomas embrionarios, schwannomas, leiomiomas de vejiga, leiomiomas epitelioides de la piel y los tejidos subcutáneos, hemangiomas capilares, tumores de células granulosas ováricas y neoplasias angiosarcomatosas tiroideas.

24. Tejidos normales: El anticuerpo marca la piel, pero no marca estómago, colon, pulmón, hígado, bazo, riñón, testículo, vejiga urinaria, mama, ovario, músculo liso y tejidos adiposos. Se ha informado que el anticuerpo marca las células productoras de esteroides de corteza suprarrenal, ovarios y testículos.

Tejidos anómalos: En melanomas metastásicos, el anticuerpo marcó 16/21 casos e indicó tinción citoplasmática homogénea en >80-90% de células de melanoma, excepto en una que presentó tinción focal. En otro estudio de 10 nevos melanocíticos benignos, 10 melanomas primarios y 75 melanomas metastásicos, el anticuerpo marcó de 10/10 nevos melanocíticos benignos, 7/10 melanomas primarios y 61/75 melanomas metastásicos.

Entre 111 carcinomas, principalmente adenocarcinomas y carcinomas de células escamosas, 40 tumores de células germinales y 33 tumores epitelioides no melanocíticos diversos, el anticuerpo no marcó ninguno. El anticuerpo marcó 5/5 adenomas corticosuprarrenal, 16/16 carcinomas corticosuprarrenal primarios y 13/13 metastásicos, así como 4/4 tumores de células de Leydig de testículo y 3/4 tumores de células de Sertoli-Leydig de ovario. En otro estudio de 316 casos, entre ellos 21 tumores corticosuprarrenales, 16 carcinomas metastásicos a la glándula suprarrenal, 10 feocromocitomas y 269 carcinomas extrasuprarrenales, el anticuerpo marcó 14/14 adenomas corticosuprarrenales, 7/7 carcinomas corticosuprarrenales, 0/16 carcinomas metastásicos a la glándula suprarrenal y 0/10 feocromocitomas. De los 269 carcinomas extrasuprarrenales, se marcó un único carcinoma seroso ovárico.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

En un estudio de 18 angiomiolipomas, el anticuerpo marcó los 18. En otro informe, el anticuerpo marcó los tres angiomiolipomas analizados.

25. Tejidos normales: El anticuerpo marca todos los tejidos epiteliales normales. Las células epiteliales de distinto origen muestran diversos niveles de tinción, pero la mayor parte de los epitelios son fuertemente positivos. Solo las células parietales de las glándulas gástricas, las capas celulares apicales de los epitelios escamosos y los hepatocitos adultos son negativos. El anticuerpo no marca los tejidos no epiteliales, tales como bazo, sangre periférica, médula ósea, cerebro, tejido conjuntivo, músculo liso y estriado, corazón, endotelios y mioepitelios. Además, las células de revestimiento del peritoneo y la pleura son negativas, mientras que las células que recubren los ovarios muestran una ligera tinción.

En el colon, las células epiteliales de la columna muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En el riñón, las células epiteliales que recubren la cápsula de Bowman muestran una reacción de tinción de débil a moderada.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 142 de 144 muestras de tumores epiteliales, independientemente de su diferenciación, derivadas de mamas, esófago, estómago, colon, recto, páncreas, riñón, hígado, pulmón, tiroides y glándulas salivales, vagina, ovario, cuello uterino y nasofaringe, lo que refleja el patrón de tinción en sus homólogos no malignos. Los carcinomas hepatocelulares mostraron una tinción heterogénea e incluyeron los dos casos no marcados. En este estudio, 2 de 2 carcinomas de células escamosas de pulmón y de cuello uterino, respectivamente, se marcaron en muestras fijadas con formol e incluidas en parafina, aunque en los tejidos normales solo se marcaron las capas de células basales. En algunos carcinomas, como los carcinomas gástricos, el anticuerpo mostró un marcado más fuerte que en los tejidos normales, en especial en la membrana.

El anticuerpo no marcó ninguno de los 88 tumores no epiteliales ni de los 20 casos de leucemia.

En un estudio de 83 adenocarcinomas y 115 mesoteliomas malignos, el anticuerpo marcó 72/83 adenocarcinomas, mientras que solo se marcó 1/115 mesoteliomas malignos. En otro estudio, se marcaron 20/20 adenocarcinomas pulmonares y 4/46 mesoteliomas. De los 4 mesoteliomas positivos, 2 mostraron un marcado estrictamente focal. En los ganglios linfáticos clasificados como libres de tumor mediante una técnica histopatológica convencional, el anticuerpo marcó células tumorales micrometastásicas en 89 de 126



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

pacientes con carcinomas esofágicos completamente extirpados. En un estudio de 75 tumores de piel, el anticuerpo marcó 39/39 carcinomas de células basales, 0/23 carcinomas de células escamosas y mostró ciertas áreas de tinción en 13/13 carcinomas basoescamosos.

26. Tejidos normales: Las células NK/T en la zona T de la amígdala y en el borde de los centros germinales muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte, mientras que las células de Schwann en los plexos de Auerbach y Meissner del colon/apéndice muestran una reacción de tinción de débil a moderada.

Tejidos anormales: 28/28 tumores malignos de la vaina de nervios periféricos también resultaron teñidos por el anticuerpo. Se ha detectado inmunorreactividad en áreas con alta densidad celular (Antoni A) de 15/27 schwannomas (56%) así como marcado local en células dispersas raras de 6/22 neurofibromas (27%). Se ha observado una intensidad de tinción fuerte o moderada de CD57 en 274/301 casos de cáncer de próstata (91%).

27. Tejidos normales: En el colon, las células de Goblet muestran una tinción citoplasmática de moderada a fuerte.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 19/23 adenocarcinomas de colon, 7/16 tumores ováricos mucinosos, 1/3 adenocarcinoma pancreático y 6/6 esófagos de Barrett. Estudios anteriores han demostrado la marcación de anticuerpos en el 94,4-100% de adenocarcinoma mucinoso de origen gastrointestinal, el 100% de metaplasia intestinal en el esófago de Barrett y el 51-90% adenocarcinomas de colon con metástasis ovárica. En 51/51 biopsias de pacientes con metaplasia de Barrett, no se detectó MUC2 en el epitelio escamoso, las glándulas submucosas esofágicas o en mucosa gástrica de tipo fúndico o cardiaco. En 6/6 casos sin mucosa de Barrett definida, no se detectó expresión de MUC2. No se observó marcado de MUC2 en 22/22 casos de adenocarcinoma mucinoso ovárico primario. También se registró ausencia de tinción de MUC2 en 10/10 carcinomas endometrioides ováricos y 12/12 cistadenomas mucinosos benignos.

28. Tejidos normales: en el tejido vascular, las células endoteliales muestran una tinción nuclear de moderada a fuerte y el tejido linfóide muestra una tinción nuclear de débil a fuerte.

Tejidos anómalos: el anticuerpo marcó: adenocarcinoma de próstata 10/28 (35,7%), neoplasia intraepitelial prostática 1/3 (33,3%), carcinoma endometriode ovárico 1/1 (100%), GIST 1/1 (100%), linfoma de Hodgkin 2/2 (100%), linfoma de células B, LLC-B 1/1 (100%), linfoma de células del manto 1/1 (100%), linfoma de células 1/1 (100%), DLBCL 2/2 (100%),


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

linfoma anaplásico de células T 1/1 (100%). Otros estudios han demostrado que la expresión de la proteína ERG en 51/83 (61%) adenocarcinomas de próstata en biopsias con aguja y 62/128 (48,4%) adenocarcinomas de próstata en TMA.

29. Tejidos normales: En el colon, los axones de los nervios de la lámina muscular y en la lámina propia muestran una reacción a la tinción de fuerte a moderada, mientras que las células neuroendocrinas de la superficie epitelial muestran una reacción a la tinción de débil a moderada. En ocasiones, se puede observar el marcado citoplasmático de células calciformes en el colon y el intestino delgado.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 4/4 carcinomas de pulmón de células pequeñas, 2/6 carcinomas de pulmón de células grandes, 2/2 carcinoides atípicos de pulmón, 3/3 carcinoides de colon, 5/5 carcinoides de intestino delgado, 1/1 neoplasia neuroendocrina de páncreas, 1/1 ganglioneuroma, 3/3 carcinomas medulares de tiroides, 2/3 adenocarcinomas de pulmón, 1/2 adenocarcinoma de pulmón no diferenciado, 2/4 adenocarcinomas de colon, 1/4 adenocarcinomas de intestino delgado, 1/2 adenocarcinoma de páncreas y 0/3 carcinomas papilares de tiroides.

30. Tejidos normales: En el cuello uterino, las células epiteliales columnares muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte, en el tejido gástrico las células foveolares y mucopéptidas del cuello muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. El anticuerpo marca los bronquios, el endocérvix y el estómago (6). No se ha detectado inmunorreactividad de la MUC5AC en mama, colon, el exocérvix, esófago, riñón, hígado, ovario, páncreas, próstata, piel, intestino delgado.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 12/12 cistadenomas mucinosos benignos que se caracteriza por un revestimiento de células de tipo endocervical que expresan el antígeno MUC5AC en el citoplasma. Se marcaron los 5 casos de tumores mucinosos dudosos de tipo endocervical, mientras que otros 5 casos de tumores mucinosos dudosos de tipo gastrointestinal expresaron MUC5AC en un grado e intensidad variables. Se marcaron 10/10 cistoadenocarcinomas mucinosos. No se observó marcado en 10 adenocarcinomas colónicos con metástasis. El anticuerpo marcó la MUC5AC en 46/50 (92%) carcinomas ductales invasivos pancreáticos. En metaplasia intestinal, el anticuerpo marcó tanto las células columnares como las calciformes en 52/52 (100%) casos de esófago de Barrett y en 20/50 (40%) casos de metaplasia intestinal gástrica. El anticuerpo marcó 4/4 cistadenomas ováricos mucinosos, 4/6 cistadenomas ováricos mucinosos dudosos, 4/5 carcinomas



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

ováricos mucinosos, 1/6 carcinomas ováricos de células claras, 1/6 carcinomas endometrioides ováricos, 0/8 carcinomas serosos ováricos, 1/1 carcinoma endometriode uterino, 0/1 carcinoma de cuello uterino, 7/9 adenocarcinomas pancreáticos, 1/4 adenocarcinomas de colon, 0/4 linfoma de células B, 0/2 linfomas de células T periféricas, 0/2 linfomas de Hodgking, 0/3 carcinomas uroteliales, 5/9 carcinomas intestinales gástricos, 3/4 carcinomas gástricos de células mucinosas, 0/2 adenocarcinomas de próstata, 0/2 carcinomas de células renales, 0/3 carcinomas de mama, 0/2 adenocarcinomas pulmonares, 0/1 carcinoma pulmonar de células escamosas, 0/2 seminomas, 0/2 melanomas, 0/1 carcinoma medular de tiroides, 0/1 carcinoma folicular de tiroides, 0/1 GIST, 0/1 leiomiosarcoma, 0/1 rabdomiosarcoma. Otros estudios mostraron un marcado difuso en 10/22 o marcado focal en 1/22 carcinomas ováricos mucinosos primarios y marcado difuso o focal en 1/40 adenocarcinomas colónicos con metástasis en TMA (9). Se observó la expresión de MUC5AC en 52/52 (100%) de los pacientes con esófago de Barrett y en 20/50 (40%) de los pacientes con metaplasia gástrica intestinal.

31. Tejidos normales: En la amígdala, las células epiteliales escamosas muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En la próstata, las células epiteliales basales muestran una reacción a la tinción de débil a moderada. De forma esporádica, se puede observar marcado citoplasmático de granulocitos.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó células basales en 10/10 hiperplasias de próstata y células mioepiteliales en 5/5 carcinomas localizados de mama. El anticuerpo etiquetó 6/6 carcinomas de células escamosas de pulmón, 6/6 carcinomas de células escamosas de cuello uterino, 0/10 carcinomas de próstata, 3/6 carcinomas de mama, 4/6 adenocarcinomas de cuello uterino, 4/6 adenocarcinomas de pulmón.

32. Tejidos normales: En las trompas de Falopio, el borde en cepillo apical de las células epiteliales muestra una reacción de moderada a fuerte a la tinción. Las células epiteliales diseminadas también muestran una reacción citoplasmática. El anticuerpo también marca las células dendríticas foliculares y el epitelio glandular de la próstata.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 18/25 carcinomas de ovario serosos y 4/20 carcinomas de ovario mucinosos. En otro estudio, el anticuerpo marcó 22/22 carcinomas de ovario serosos, 5/10 carcinomas de ovario mucinosos, 6/7 carcinomas de ovario endometrioides y 10/10 carcinomas de ovario. Además, se halló que CA 125 fue expresado


Bióq. Alicia Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

por 19/20 (95%) carcinomas serosos papilares de ovario, 2/3 (67%) carcinomas papilares serosos del peritoneo y 8/32 (25%) mesoteliomas peritoneales difusos.

33. Tejidos normales: El anticuerpo marca el urotelio normal (1, 4) y el epitelio maduro que recubre la vellosidad de la mucosa duodenal.

La inmunorreactividad a CK 20 no se ha detectado en varios tejidos no epiteliales analizados, como músculo liso, pared de los vasos sanguíneos, ganglios linfáticos y estroma tumoral. En células epiteliales columnares del colon, las células lumbales muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte, mientras que las células basales-intermedias tienen una reacción de débil a moderada.

Tejidos anormales: En el adenocarcinoma colónico, el anticuerpo marcó 26 de 27 tumores (96%). Veintiuno (78%) mostraron tinción en más del 50% de las células. El anticuerpo marcó células uroteliales superficiales (marcado normal en 10 de 51 pacientes con papiloma urotelial de vejiga. A diferencia de ello, 30 pacientes (73%) mostraron expresión de CK 20 en todas las capas celulares (marcado anormal). El anticuerpo marcó 3 de 4 tumores gástricos metastásicos.

Se observó inmunotinción focal con el anticuerpo (menos de 10% de células marcadas) en 9 de 65 tumores de pulmón, 1 de 20 de mama y 2 de 11 de endometrio. De 19 carcinomas renales de células claras, 1 mostró marcado en el 10-50% de las células. Ninguno de 10 carcinomas de ovario primarios y ninguno de 5 mesoteliomas se marcaron para el anticuerpo.

34. Tejidos normales: El anticuerpo marca las células del sincitiotrofoblasto en células germinales de testículos y en placentas durante el tercer trimestre. En la placenta, las células endoteliales del borde en cepillo del sincitiotrofoblasto y del trofoblasto muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte, mientras que el compartimiento citoplasmático del sincitiotrofoblasto y del trofoblasto muestra una reacción a la tinción de leve a moderada. Advierta que se ha observado tinción en las células del músculo liso y estriado con este anticuerpo.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 19/22 seminomas, 2/14 tumores del saco vitelino y 7/24 carcinomas embrionarios, así como 17/21 tumores desmoplásicos de células redondas pequeñas.

35. Tejidos normales: El anticuerpo marca los epitelios escamosos estratificados. En los epitelios complejos, las células basales expresan la CK 5 en la mayor parte de los casos. Por lo general, el anticuerpo no marca los epitelios simples ni las células no epiteliales. En la



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

amígdala, las células epiteliales escamosas basales muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En la próstata, las células basales muestran una reacción a la tinción de débil a moderada, mientras que en las células secretoras solo se observa reacción focal o nula.

Tejidos anormales: La CK 5/6 se expresó en los 10 casos de carcinoma de células escamosas fusiformes. En cambio, se observó tinción de CK 5/6 solo en células tumorales raras en 1/24 (4%) casos de sarcoma epiteliode.

En otro estudio, el anticuerpo marcó fuertemente los 23 mesoteliomas con diferenciación acinar o epiteliode, mientras que en las áreas sarcomatoides de tumores con una morfología mixta el marcado fue débil o nulo. Un caso de mesotelioma sarcomatoide produjo una reacción equívoca, mientras que los mesoteliomas de tipo desmoplásico o sarcomatoide no se marcaron. De 27 adenocarcinomas secundarios de pleura, 22 no se marcaron, 4 fueron débiles o equívocos y 1 se marcó focalmente.

Con el anticuerpo, se han observado altos niveles de marcado de citoqueratina 5/6 en hiperplasia ductal de tipo usual. Sin embargo, no se observó marcado en la mayoría de los casos de hiperplasia ductal atípica y carcinoma ductal in situ. En tejidos en parafina y fijados en formol, el anticuerpo marcó 56/61 (92%) de los mesoteliomas pleurales epitelioides, mientras que se marcaron 9/63 (14%) de los adenocarcinomas metastásicos. También se marcó el mesotelio reactivo.

36. Tejidos normales: el anticuerpo marca células epiteliales en una gran variedad de tejidos y células mesoteliales. Entre ellos se encuentran los conductos sudoríparos y las glándulas sebáceas de la piel, el epitelio del tubo digestivo, ácinos y conductos mamarios, células exocrinas del páncreas, epitelio de la vejiga, túbulos distales del riñón, cuello uterino, endometrio, epitelio de vías respiratorias, conductos biliares y tiroideos. No se observó marcado en epidermis, células endocrinas del páncreas, glomérulos y túbulos proximales del riñón, sistema nervioso central, sistema nervioso periférico, tejido conectivo, hepatocitos y tejido linfóide, con excepción de células plasmáticas ocasionales.

Tejidos anómalos: el anticuerpo marca una amplia variedad de epitelios neoplásicos, así como células mesoteliales neoplásicas.

En un amplio estudio de 2081 neoplasias epiteliales, mesenquimales y hematopoyéticas, el anticuerpo mostró una especificidad del 98,6%. Se demostró que el anticuerpo marcó 105/354 casos de tumores endocraneales y de tejidos blandos, de los cuales la mayor parte



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

de los casos marcados fueron sarcomas sinoviales y epitelioides, mesoteliomas malignos de células fusiformes, cordomas y tumores del plexo coroideo, 38/169 casos de tumores de células redondas pequeñas y sarcomas de células pequeñas, 13/158 casos de neoplasias de células germinativas, 23/23 casos de carcinomas sarcomatoides de células fusiformes, 815/918 casos de otras neoplasias epiteliales malignas, entre ellas, neoplasias escamosas, de células de Merkel y mamarias, adenocarcinomas gástricos y colónicos, y carcinomas de páncreas, glándulas salivales, vejiga, útero, ovario, vagina, pulmón, próstata, tiroides, timo, hígado, células renales y nasofaringe. En los linfomas, el anticuerpo marcó 10/22 casos de CD30+ ALCL nulo o de células T de células pequeñas, monomórficos o pleomórficos, 34/35 casos de p80/ALK+, 1/6 casos de células T/NK CD56/57+, 2/7 casos de células T grandes citotóxicas EBV+, 2/8 casos de células T citotóxicas de grado bajo y 6/10 casos de linfomas tipo Hodgkin citotóxicos. No se observó marcado en 18/18 casos de carcinomas de células basales, 12/12 casos de carcinomas hepatocelulares, 43/43 casos de melanomas malignos y 69/69 casos de neoplasias endocrinas, a excepción de lesiones poco diferenciadas en 6 casos de insulinomas.

37. Tejidos normales: El anticuerpo marca células EC en el colon.

Tejidos anormales: En un estudio de 48 casos de adenomas y tumores carcinoides del oído medio, el anticuerpo marcó células tumorales en 12 casos (25%). En un caso de tumor carcinoide del oído medio, el anticuerpo marcó células tumorales.

38. Tejidos normales: En cortes de colon normal, el anticuerpo marca algunos axones en haces de axones de los plexos de Auerbach y Meissner, mientras que los pericariones de las células ganglionales no se inmunotiñen.

Tejidos anormales: En los gangliogliomas, el anticuerpo marcó los procesos neuronales en 10 de 13 tumores, mientras que en solo 5 de los casos, se observó una tinción significativa en los pericariones neuronales. En un estudio inmunocitoquímico de los filamentos intermedios en el carcinoma de células de Merkel, 2 de 2 cortes congelados se marcaron en prácticamente todas las células tumorales en un patrón granular focal y reticular difuso. En tejido fijado con formol e incluido en parafina, se marcaron 2 de 8 casos. En cortes congelados de 94 tumores pulmonares, se observó coexpresión de citoqueratinas y NF en el 22%. El marcado fue principalmente focal o irregular.

39. Tejidos normales: En tejido de próstata normal, el anticuerpo marca las células epiteliales glandulares. El anticuerpo también marca el estroma fibromuscular prostático a un grado



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

variable, aunque no se marque el músculo liso en cualquier otro lugar. También se observa tinción en células dispersas del urotelio de adultos y de la uretra prostática y peniana de fetos. Además, el anticuerpo marca las asas de Henle, la mácula densa y los túbulos distales en 10/10 riñones fetales y 2/9 riñones adultos. El anticuerpo también marcó las células de los islotes pancreáticos en 4/5 muestras de páncreas normal y en 4/9 bloques de páncreas normal ubicados alrededor de un tumor pancreático.

Aparte del marcado mencionado con anterioridad, no se observó marcado en el aparato genitourinario, sistema linfoproliferativo, aparato locomotor, sistema cardiovascular y respiratorio, tejido endocrino y glandular, ni en el sistema nervioso. No se observó marcado en 13 tejidos fetales ni en la placenta y cordón umbilical de primer, segundo y tercer trimestre. Tejidos anormales: El anticuerpo marcó las 12 próstatas benignas, 32 malignas y 11 metastásicas. De 402 neoplasias no prostáticas, el anticuerpo marcó 9, es decir, 6/36 carcinoides, 1/55 adenocarcinomas de ovario, 1/1 carcinosarcoma pulmonar y 1/9 insulinosas. En los 393 tumores restantes no se observó marcado, por lo que 22 tumores de las vías urinarias, 78 del aparato genital, 62 de órganos endocrinos, 30 carcinoides, 38 tumores en huesos, músculos y tejidos blandos, 32 de mama, 44 del tubo gastrointestinal, 36 de las vías respiratorias, 17 en el sistema linfoproliferativo, 16 de la piel y 18 del sistema nervioso no resultaron ser inmunorreactivos.

40. Tejidos normales: El anticuerpo marca todos los tejidos epiteliales normales. Las células epiteliales de distinto origen muestran diversos niveles de tinción, pero la mayor parte de los epitelios son fuertemente positivos. Solo las células parietales de las glándulas gástricas, las capas celulares apicales de los epitelios escamosos y los hepatocitos adultos son negativos. El anticuerpo no marca los tejidos no epiteliales, tales como bazo, sangre periférica, médula ósea, cerebro, tejido conectivo, músculo liso y estriado, corazón, endotelios y mioepitelios. Además, las células de revestimiento del peritoneo y la pleura son negativas, mientras que las células que recubren los ovarios muestran una ligera tinción.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 142 de 144 muestras de tumores epiteliales, independientemente de su diferenciación, derivadas de mamas, esófago, estómago, colon, recto, páncreas, riñón, hígado, pulmón, tiroides y glándulas salivales, vagina, ovario, cuello uterino y nasofaringe, lo que refleja el patrón de tinción en sus homólogos no malignos. Los carcinomas hepatocelulares mostraron una tinción heterogénea e incluyeron los dos casos no marcados. En este estudio, 2 de 2 carcinomas de células escamosas de pulmón y de



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

cuello uterino, respectivamente, se marcaron en muestras fijadas con formol e incluidas en parafina, aunque en los tejidos normales solo se marcaron las capas de células basales. En algunos carcinomas, como los carcinomas gástricos, el anticuerpo mostró un marcado más fuerte que en los tejidos normales, en especial en la membrana. El anticuerpo no marcó ninguno de los 88 tumores no epiteliales ni de los 20 casos de leucemia.

En un estudio de 83 adenocarcinomas y 115 mesoteliomas malignos, el anticuerpo marcó 72/83 adenocarcinomas, mientras que solo se marcó 1/115 mesoteliomas malignos. En otro estudio, se marcaron 20/20 adenocarcinomas pulmonares y 4/46 mesoteliomas. De los 4 mesoteliomas marcados, 2 mostraron un marcado estrictamente focal. En los ganglios linfáticos clasificados como libres de tumor mediante una técnica histopatológica convencional, el anticuerpo marcó células tumorales micrometastásicas en 89 de 126 pacientes con carcinomas esofágicos completamente extirpados. En un estudio de 75 tumores de piel, el anticuerpo marcó 39/39 carcinomas de células basales, 0/23 carcinomas de células escamosas y mostró ciertas áreas de tinción en 13/13 carcinomas basoescamosos.

41. Tejidos normales: El anticuerpo marca varios epitelios distintos, por ejemplo, epitelio simple en los conductos biliar y pancreático, túbulos renales contorneados proximales y distales, epitelio de tiroides, paratiroides, gástrico, de la vesícula biliar, del intestino delgado, del intestino grueso y endometrial, así como los hepatocitos. El epitelio de la rete ovarii, epoóforo, trompas de Falopio y superficie del ovario también son reactivos con el anticuerpo. En el epitelio escamoso estratificado de la piel, el anticuerpo marca la capa basal, así como la cubierta exterior de la raíz del epitelio folicular y la capa basal de las glándulas y conductos sebáceos, ecrinos y apocrinos. De igual modo, se ha descrito que el epitelio no escamoso estratificado del esófago y el ectocérvix resulta positivo con el anticuerpo MNF116. El anticuerpo también marca el epitelio transicional (urotelio) y distintos epitelios complejos, por ejemplo conductos y acinos de mama, glándulas endocervicales, epitelio de la próstata, epidídimo, epitelio bronquial, así como los conductos y acinos de las glándulas salivares. Normalmente las células mesenquimales no son reactivas con el anticuerpo. Sin embargo, se ha descrito un marcaje débil y focal de las células de músculo liso. El anticuerpo no marca el endotelio, el músculo esquelético, el cartílago ni los tejidos linfoides.

Tejidos anómalos: De los tumores epiteliales, el anticuerpo marcó 4/4 carcinomas colorrectales, 3/3 carcinomas gástricos, 4/4 carcinomas de mama, 3/3 carcinomas



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

prostáticos, 3/3 carcinomas de células renales, 3/4 carcinomas hepatocelulares, 3/3 carcinomas de células transicionales, 2/3 carcinoides de apéndice y, además, 2/2 teratomas y 2/2 adenomas pleomórficos (elementos epiteliales), y 14/14 carcinomas de células escamosas, es decir, 6 de origen epidérmico, 3 de origen cervical y 5 de origen bronquial. Además, 16/16 casos de tumores mixtos y mioepiteliomas presentes en tejidos blandos mostraron inmunorreactividad con el anticuerpo. También se ha observado marcaje del mesotelioma. El anticuerpo, además, marca las células micrometastásicas de carcinomas pulmonares no de células pequeñas en los ganglios linfáticos. El anticuerpo no marca los tumores no epiteliales, por ejemplo melanomas, linfomas, histiocitomas fibrosos benignos y malignos, leiomiomas, liposarcomas, condrosarcomas, sarcomas de Ewing, angiofibromas, angiosarcomas, fibroxantomas atípicos, xantogranulomas juveniles, hemangiomas, tumores de células granulares, mixomas del folículo piloso, histiocitomas epitelioides y dermatofibrosarcomas. No obstante, en 1/6 casos, y 1/2 casos de leiomiosarcomas, el anticuerpo mostró una reactividad débil y focal.

42. Tejido normal: Anti-CD14, TÜK4 reacciona fuertemente con monocitos de sangre periférica y muestra gran reactividad con los granulocitos. También reacciona con los macrófagos perivasculares. El anticuerpo marca el 50% de las células de Langerhans en suspensiones celulares epidérmicas y se caracteriza, por tanto, como una reacción débil.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó de pocas a muchas células que expresan CD14 en 6/8 sarcomas histiocíticos y 4/5 leucemias monoblásticas agudas.

43. Tejidos anormales: El marcado de tumores carcinoides gastrointestinales mostró una tinción regular, irregular, difusa o poco uniforme en 31/37 (84%). Se marcaron todos los paragangliomas (22/22, 100%) de distintas localizaciones anatómicas y 22/24 (92%) carcinomas neuroendocrinos tímicos (tumores carcinoides). Se marcaron 2/7 casos de carcinoma neuroendocrino colorrectal de células grandes.

44. Tejidos normales: El anticuerpo marca las neuronas de la corteza cerebral humana y de los núcleos del tronco cerebral. Además, el anticuerpo marca las células ganglionares del tubo digestivo humano y de las fibras nerviosas mielinizadas y no mielinizadas. En testículos normales de adultos, el anticuerpo muestra una débil inmunotinción de las espermatogonias. **Tejidos anormales:** El anticuerpo marca los tumores que derivan de o que contienen neuronas, células ganglionares y nervios periféricos. No obstante, también se pueden marcar de forma específica los tumores no derivados de neuronas, tales como meningiomas,



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

meduloblastomas, astrocitomas, glioblastomas, oligoastrocitomas, oligodendrogliomas, adenomas de hipófisis, schwannomas, ependimomas, meningosarcomas, gliosarcomas y metástasis de distintos orígenes, es decir, melanomas, carcinomas pulmonares de células pequeñas y carcinomas no diferenciados. Además, el anticuerpo marca los tumores de células germinales, es decir, los carcinomas testiculares in situ, seminomas y carcinomas embrionarios.

45. Tejidos normales: El anticuerpo marca a los tejidos que se sabe están proliferando activamente. Así, se observa inmunorreactividad en el estrato basal de los epitelios escamosos estratificados y en la mayoría de las células del bulbo piloso, así como en los compartimentos proliferativos del estómago, intestino delgado y colon. En los tejidos linfoides, el anticuerpo marca a las células del centro germinativo y a las células dispersas del paracórtex. En los testículos, marca a la mayoría de los espermatogonios, mientras que no marca a las espermátides y al esperma ni a las células intersticiales y células de Sertoli. En los ovarios, marca a los óvulos meiósicos tanto en el núcleo como en el citoplasma. En los tejidos que se sabe que no son proliferativos o que tienen una tasa de renovación baja, el marcado con el anticuerpo es mínimo. Por ejemplo, en el riñón adulto se observa muy poco marcado, y en el páncreas el anticuerpo solo marca a células atípicas acinares y de los conductos. No se observa marcado en el sistema nervioso adulto central o periférico, en el músculo esquelético, liso y cardíaco, ni en hepatocitos normales, aunque algunas células de Kupffer atípicas muestran una tinción del núcleo.

Tejidos anormales: En 20 ganglios linfáticos que incluían 4 casos de hiperplasia linfoide reactiva y 16 casos de linfoma se observó una relación lineal entre los porcentajes de células marcadas con el anticuerpo anti-PCNA y un anticuerpo anti-Ki-67.

46. Tejidos normales: En los ganglios linfáticos, el anticuerpo marcó células endoteliales, el citoplasma de varios macrófagos que habían fagocitado el antígeno y, en algunos casos, varias células de centros germinales. En el timo solo se marcó un número bajo de linfocitos medulares. En ganglios linfáticos y bazo reactivos, el anticuerpo marcó las membranas citoplasmáticas de la zona del manto y algunos inmunoblastos en el exterior de los folículos linfoides. En tejidos no linfoides, el anticuerpo marcó células alveolares pulmonares, de los túbulos renales, algunas células endoteliales y del conducto salival.

Tejidos anómalos: De entre las leucemias de células pilosas, 41/42, 238/241 y 41/41 mostraron un fuerte marcado de las características pilosas de la membrana superficial con



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

el anticuerpo. 19/24 linfomas esplénicos con linfocitos vellosos se marcaron con el anticuerpo. Fue posible distinguir la LCP y los LELV gracias a sus características citológicas. Se marcaron 0/8, 2/42 y 1/21 de entre las leucemias linfocíticas crónicas de células B. 3/83 de una variedad de linfomas de células T resultaron positivos con el anticuerpo, pero se limitó la tinción a la zona paranuclear de solo algunas células grandes. En un grupo de pruebas analíticas con 25 tumores no linfoides diferentes, el anticuerpo mostró una tinción débil de un número bajo de células en 1/4 tumores carcinoides y 1/2 adenocarcinomas de colon y rectales.

47. Tejidos normales: En el mesotelio normal y reactivo, el anticuerpo marcó 0/40 casos, y en 27 mesoteliomas, las células normales, como por ejemplo los fibroblastos y células endoteliales, no se marcaron.

Tejidos anormales: En el linfoma folicular se observa una creciente acumulación de p53 en centroblastos con una progresión morfológica que derivó en el marcado de 1/16 casos de grado I, 10/21 casos de grado II, y 6/6 casos de grado III. En los mesoteliomas, el anticuerpo marcó 7/26 casos de tipo epitelial (1 a 25% de células marcadas), 1/7 casos de tipo mixto (25 a 50% de células marcadas) y 1/3 casos de tipo mesenquimal (más del 75% de células marcadas).

48. Tejidos normales: En general, el anticuerpo marca epitelios simples y el epitelio transicional y no componentes epiteliales estratificados, que son negativos. El marcado incluye epitelios simples de intestino, ramificación bronquial y alvéolos del sistema respiratorio, túbulos renales, conductos biliares, mucosa superficial del endometrio y endocervical, epitelio de las trompas de Falopio y red epitelial de testículo y ovario. Además, el anticuerpo marca los hepatocitos y los acinos pancreáticos. También marca los epitelios glandulares complejos mamarios, salivales y de glándulas sudoríparas, así como al epitelio transicional de la vejiga urinaria. Además, se marcan las células epiteliales del periodonto. De las células no epiteliales, el anticuerpo marca las células endoteliales en vénulas, sistema linfático y capilares en tejidos tales como piel, tejidos blandos subcutáneos, músculo esquelético, placenta y, por ejemplo, la mucosa de las vías respiratorias, el tubo digestivo y el tracto genital. No se observó marcado en los tejidos epiteliales que carecen de CK 18, por ejemplo, epidermis, epidermis de la planta del pie, vagina, exocérvix, esófago y células mioepiteliales.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tejidos anómalos: En tumores de páncreas, el anticuerpo marcó 6/6 carcinomas de células acinares, 1/1 pancreatoblastoma, 19/20 tumores neuroendocrinos pancreáticos, y 10/19 tumores sólidos pseudopapilares. Además, el anticuerpo marcó 30/30 sarcomas sinoviales bifásicos, 21/46 monofásicos, y 8/17 mal diferenciados. En tumores vasculares, el anticuerpo marcó células endoteliales en 17/17 hemangioendoteliomas epitelioides, 9/14 angiosarcomas epitelioides, 6/10 hemangiomas de células fusiformes, 2/7 linfangiomas, 10/48 angiosarcomas no epitelioides, 3/13 hemangiomas venosos, y 1/18 hemangiomas capilares.

No se observó marcado en 4 hemangiomas cavernosos ni en 6 sarcomas de Kaposi.

49. Tejidos normales: El anticuerpo marca sistemáticamente un gran número de epitelios simples, complejos y transicionales, como los conductos biliares y pancreáticos, alvéolos pulmonares, endometrio, túbulos contorneados distales y conductos colectores del riñón (epitelios simples), epitelio bronquial y bronquiolar, conductos de la próstata, células luminales de la trompa de falopio y cuello uterino, glándulas bronquiales, mamarias, salivares, sudoríparas y endocervicales, trofoblastos placentarios (epitelios complejos) y todas las capas de células de urotelio (epitelio transicional). Además, el anticuerpo marca el mesotelio ovárico, lo que también se observó en las células luminales y basales de la próstata y en células mioepiteliales. Es más, en cortes congelados, se ha demostrado que el anticuerpo marca la red epitelial del testículo, el epitelio del epidídimo y el epitelio superficial del estómago y del duodeno. El anticuerpo no marca los tejidos no epiteliales, como el tejido conectivo, los vasos sanguíneos y el tejido linfoide.

Tejidos anómalos: En el ovario humano, el anticuerpo marcó 12/12 tumores quísticos simples, 12/12 cistadenomas y 60/60 carcinomas. Además, el anticuerpo marcó 6/6 carcinomas endometriales, 4/4 endocervicales, 3/3 mamarios y 3/3 de tiroides. En tejidos congelados del tracto genital femenino, el anticuerpo marcó 1/1 tumor ovárico de Brenner, 21/21 cistoadenocarcinomas serosos y 6/6 cistoadenocarcinomas mucinosos, 4/4 carcinomas ováricos no clasificados, 8/8 carcinomas endometrioides, 1/1 carcinoma adenoescamoso de cuello uterino, 1/1 metástasis en las trompas de falopio de adenocarcinoma en el cuello uterino y 1/1 coriocarcinoma placentario. En el pulmón humano, el anticuerpo marcó 20/20 adenocarcinomas de distintos grados, incluso 4 carcinomas bronquiolveolares, mientras que no marcó 24/24 casos de carcinomas de células escamosas, al igual que 6/6 casos de carcinomas de células anaplásicas grandes y 10/10


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

casos de mesoteliomas. En el aparato digestivo humano, el anticuerpo marcó 5/6 adenocarcinomas de distintos grados y 3/3 carcinomas de células en anillo de sello poco diferenciados en el estómago, y 1/1 carcinoma del páncreas, mientras que no marcó los carcinomas anaplásicos de estómago, intestino delgado y recto así como los adenocarcinomas de colon de distintos grados. En tejidos congelados, el anticuerpo marcó 1/1 adenocarcinoma anaplásico de estómago, 1/1 adenocarcinoma de yeyuno, 2/2 carcinoides intestinales, 1/1 hepatoblastoma y 3/8 carcinomas hepatocelulares. También marcó 4/4 carcinomas de células transicionales. El anticuerpo marcó 6/6 carcinomas renales de células cromóforas mientras que no marcó 8/11 oncocitomas.

50. Tejidos normales: El anticuerpo marca el urotelio normal y el epitelio maduro que recubre la vellosidad de la mucosa duodenal.

La inmunorreactividad a CK 20 no se ha detectado en varios tejidos no epiteliales analizados, como músculo liso, pared de los vasos sanguíneos, ganglios linfáticos y estroma tumoral.

Tejidos anormales: En el adenocarcinoma colónico, el anticuerpo marcó 26 de 27 tumores (96%). Veintiuno (78%) mostraron tinción en más del 50% de las células. El anticuerpo marcó células uroteliales superficiales (marcado normal en 10 de 51 pacientes con papiloma urotelial de vejiga. A diferencia de ello, 30 pacientes (73%) mostraron expresión de CK 20 en todas las capas celulares (marcado anormal). El anticuerpo marcó 3 de 4 tumores gástricos metastásicos.

Se observó inmunotinción focal con el anticuerpo (menos de 10% de células marcadas) en 9 de 65 tumores de pulmón, 1 de 20 de mama y 2 de 11 de endometrio. De 19 carcinomas renales de células claras, 1 mostró marcado en el 10-50% de las células.

Ninguno de 10 carcinomas de ovario primarios y ninguno de 5 mesoteliomas se marcaron para el anticuerpo.

51. Tejidos normales: El anticuerpo marca células suprabasales de epitelio esofágico fijado en formol, mientras que, en cortes congelados de epitelio esofágico, no se marcaron las capas suprabasales si se utilizaba un método de detección de menor sensibilidad. En cortes congelados, el anticuerpo marca la fila basal de epitelio pseudoestratificado en la laringe, la tráquea y los bronquios, y la capa celular basal del epitelio transicional en la vejiga urinaria. Además, marca las células mioepiteliales en numerosos tejidos, como las glándulas salivales, sudoríparas y prostáticas, y las zonas intra y, particularmente, extra lobulares de



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

la mama. El anticuerpo también marcó las células suprabasales de los bronquios y los bronquiolos. Además, el anticuerpo marca la cubierta exterior de la raíz de los folículos pilosos, al igual que las células del epitelio columnar endocervical. No se marcó el epitelio escamoso estratificado normal de la epidermis, el exocérvix y la laringe, además de todos los epitelios simples. No obstante, en algunos casos, se produjo una tinción débil en algunas células de la capa basal del epitelio escamoso ectocervical.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó células queratinizadas en 10/22 casos de carcinoma invasivo de esófago. En cortes congelados del cuello uterino, el anticuerpo detectó citoqueratina 17 en todo el grosor del epitelio en 10/11 casos de metaplasia escamosa inmadura. En 42/42 casos de metaplasia escamosa madura, el anticuerpo marcó la capa epitelial basal, mientras que en caso de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de diferentes grados, el anticuerpo marcó 1/4 para el grado 1, 1/6 para el grado 2 y 8/16 para el grado 3. En un estudio posterior de cáncer cervical, el anticuerpo marcó 5/5 carcinomas de células escamosas queratinizantes, 11/11 carcinomas de células grandes no queratinizantes, 5/5 adenocarcinomas endocervicales, 4/4 carcinomas endometrioides y 3/3 carcinomas adenoescamosos. En diferentes subtipos de cáncer de pulmón, el anticuerpo marcó 30/30 carcinomas de células escamosas y marcó 6/14 adenocarcinomas, 1/6 carcinomas pulmonares de células pequeñas y 1/6 carcinoides. En cortes de tumores de mama invasivos, el anticuerpo marcó 36/115 casos.

52. Tejidos normales: El anticuerpo marca el colon normal. En cortes congelados, el anticuerpo marcó la mucosa del colon normal y las foveolas gástricas. Además, el anticuerpo marcó las células mesenquimales en 2/3 cortes de estómago, 1/9 cortes de colon y 1/3 cortes de bazo. No se observó marcaje en las células del conducto del páncreas y en las células acinares, canalículo biliar hepático, células hepáticas de Kupffer, monocitos de bazo y células polimorfonucleares de bazo, las células parenquimales y mesenquimales en cortes de 1 duodeno, 2 íleo, 3 hígado, 2 páncreas, 1 pulmón, 1 timo y 8 glándulas salivares ni en cortes de parénquima de 2 estómago, 1 placenta, 1 piel, 1 amígdala y 2 bazo.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 6/6 carcinomas de colon, 2/2 carcinomas de vesícula biliar y 2/3 carcinomas de la ampolla de Vater. Además, el anticuerpo marcó 31/31 meningiomas secretores. Las pruebas realizadas con el anticuerpo sobre carcinomas medulares de tiroides presentaron inmunoreacción. El anticuerpo marcó 9/11 casos de adenocarcinoma pulmonar residual. No se observó reactividad en nueve mesoteliomas. En



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

cortes congelados, el anticuerpo marcó 8/9 carcinomas de colon, 1/2 adenocarcinomas gástricos y 1/1 carcinoma bronquial de células pequeñas. No se observó marcaje en 1 adenoma pleomórfico de parótida, 1 carcinoma bronquial de células escamosas, 1 adenocarcinoma bronquial, 2 carcinomas laríngeos, 2 carcinomas de vejiga, 3 carcinomas de mama, 9 carcinomas del cuello uterino, 3 melanomas malignos, 2 linfomas malignos no Hodgkin y 2 timomas.

53. Tejidos normales: En el hígado el anticuerpo marca los hepatocitos. No parece haber ninguna preferencia de zona en el hígado normal, pero en los sitios inmediatamente adyacentes a los tumores puede observarse una disminución del marcado en hepatocitos comprimidos. No se observa marcado de conductos biliares o células no parenquimatosas. Son negativos casi todos los tumores de piel, músculo liso y esquelético, mesotelio, ganglios linfáticos, bazo, pulmón, mama, esófago, estómago, intestino, páncreas, vías biliares, riñón, vejiga urinaria, glándula suprarrenal, próstata, endometrio y ovario. Las raras excepciones son un marcado focal, pero muchas veces fuerte, de la mucosa del intestino delgado en una minoría de casos.

Tejidos anómalos: de los carcinomas hepatocelulares primarios (HCC), 37/38 fueron marcados por el anticuerpo. De los HCC marcados, 4 solo mostraron raramente células marcadas. El caso no marcado fue un HCC esclerosante. Se observó una variación considerable de un área a otra en los HCC marcados. De las metástasis de HCC, 4/5 se marcaron. En otro estudio que comprendió 65 tumores hepáticos y 2 tumores extrahepáticos de pacientes con tumores hepáticos comprobados, el anticuerpo mostró una sensibilidad del 82% y una especificidad del 90% para la clasificación de neoplasias hepatocelulares. El anticuerpo marcó 12/12 hepatoblastomas, mientras que no marcó 26/26 tumores pediátricos seleccionados, entre ellos 5 tumores de células germinales, 4 tumores neuroectodérmicos periféricos/sarcomas de Ewing, 3 rabdosarcomas, 5 neuroblastomas, 2 tumores rabdoideas, 3 linfomas y 4 tumores de Wilms. Se observó marcado focal para el anticuerpo en 6/7 adenocarcinomas hepatoideas del tubo digestivo. Estos tumores infrecuentes también expresaron la fetoproteína alfa-1 y CEA.

54. Tejidos normales: El anticuerpo marca la piel, pero no marca estómago, colon, pulmón, hígado, bazo, riñón, testículo, vejiga urinaria, mama, ovario, músculo liso y tejidos adiposos. Se ha informado que el anticuerpo marca las células productoras de esteroides de corteza suprarrenal, ovarios y testículos. Véanse también las limitaciones específicas del producto.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tejidos anómalos: En melanomas metastásicos, el anticuerpo marcó 16/21 casos e indicó tinción citoplasmática homogénea positiva en >80-90% de células de melanoma, excepto en una que presentó tinción focal. En otro estudio de 10 nevos melanocíticos benignos, 10 melanomas primarios y 75 melanomas metastásicos, el anticuerpo marcó de 10/10 nevos melanocíticos benignos, 7/10 melanomas primarios y 61/75 melanomas metastásicos.

Entre 111 carcinomas, principalmente adenocarcinomas y carcinomas de células escamosas, 40 tumores de células germinales y 33 tumores epitelioides no melanocíticos diversos, el anticuerpo no marcó ninguno. El anticuerpo marcó 5/5 adenomas corticosuprarrenal, 16/16 carcinomas corticosuprarrenal primarios y 13/13 metastásicos, así como 4/4 tumores de células de Leydig de testículo y 3/4 tumores de células de Sertoli-Leydig de ovario. En otro estudio de 316 casos, entre ellos 21 tumores corticosuprarrenales, 16 carcinomas metastásicos a la glándula suprarrenal, 10 feocromocitomas y 269 carcinomas extrasuprarrenales, el anticuerpo marcó 14/14 adenomas corticosuprarrenales, 7/7 carcinomas corticosuprarrenales, 0/16 carcinomas metastásicos a la glándula suprarrenal y 0/10 feocromocitomas. De los 269 carcinomas extrasuprarrenales, se marcó un único carcinoma seroso ovárico.

En un estudio de 18 angiomiolipomas, el anticuerpo marcó los 18. En otro informe, el anticuerpo marcó los tres angiomiolipomas analizados.

55. Tejidos normales: El anticuerpo marca los compartimentos no proliferativos del tracto gastrointestinal, el urotelio o las vías biliares.

En la epidermis, los queratinocitos muestran una expresión diseminada que se limita principalmente a la capa suprabasal. En el músculo esquelético, la mayoría de núcleos de los miocitos se marcaron con el anticuerpo. En el pulmón, el riñón, la tiroides, el hígado, los conductos pancreáticos y los ácinos, el anticuerpo marca células epiteliales en algunas ocasiones, mientras que la gran mayoría de células de estos tejidos no presentan marcado. El anticuerpo marcó algunas células esporádicas en tejido linfoide.

Tejidos anormales: De 133 casos de carcinoma gástrico, 87 (65%) se marcaron con el anticuerpo. Se observó un índice notablemente más alto de metástasis en los nódulos linfáticos en pacientes que no presentaban expresión de p21WAF1/Cip1.

56. Tejidos normales: El anticuerpo marca los epitelios escamosos estratificados. En los epitelios complejos, las células basales expresan la CK 5 en la mayor parte de los casos. Por lo general, el anticuerpo no marca los epitelios simples ni las células no epiteliales.



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.998". The second signature is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

Tejidos anormales: CK 5/6 se expresó en los 10 casos de carcinoma de células escamosas fusiformes. En cambio, se observó tinción de CK 5/6 solo en células tumorales raras en 1/24 (4%) casos de sarcoma epiteliode. En otro estudio, el anticuerpo marcó fuertemente los 23 mesoteliomas con diferenciación acinar o epiteliode, mientras que en las áreas sarcomatoides de tumores con una morfología mixta el marcado fue débil o nulo. Un caso de mesotelioma sarcomatoide produjo una reacción equívoca, mientras que los mesoteliomas de tipo desmoplásico o sarcomatoide no se marcaron. De 27 adenocarcinomas secundarios de pleura, 22 no se marcaron, 4 fueron débiles o equívocos y 1 se marcó focalmente.

Con el anticuerpo, se han observado altos niveles de marcado de citoqueratina 5/6 en hiperplasia ductal de tipo usual. Sin embargo, no se observó marcado en la mayoría de los casos de hiperplasia ductal atípica y carcinoma ductal in situ. En tejidos en parafina y fijados en formol, el anticuerpo marcó 56/61 (92%) de los mesoteliomas pleurales epitelioides, mientras que se marcaron 9/63 (14%) de los adenocarcinomas metastásicos. También se marcó el mesotelio reactivo.

57. Tejidos normales: En el intestino delgado y el colon, las células del cuello mucoso y las células de la cripta profunda son positivas con el anticuerpo. Lo mismo ocurre con las células centrogerminales de las placas de Payer. Las células del epitelio superficial y otras células mucosas, por ejemplo las células de Paneth y las células del tejido conectivo submucoso son completamente negativas.

Lo mismo ocurre con las células musculares, con la excepción de unas pocas células positivas en los músculos lisos. El riñón, el hígado, el páncreas y el cerebro son negativos.

Tejidos anormales: En algunos casos, se halló que el anticuerpo teñía las membranas y el citoplasma. En un estudio de 322 carcinomas de mama invasivos ductales, se observó una tinción citoplasmática o membranosa. El anticuerpo marcó 24/24 carcinomas de próstata.

58. Tejidos normales: El anticuerpo marca las células foliculares tiroideas. El tejido conjuntivo, las vainas del nervio, los vasos y el páncreas no se marcan con el anticuerpo. Además, no se observó marcado en las amígdalas, el hígado, el colon, el cerebelo, el riñón y la próstata.

Tejidos anormales: Los cortes congelados de biopsias por aspiración con aguja fina procedentes de 150 nódulos tiroideos se marcaron con el anticuerpo. En 113/125 de los nódulos benignos, se marcaron el 80-100% de células, mientras que todas las muestras de tumores malignos produjeron menos del 80% de células marcadas. La mayoría de los



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

cánceres papilares quedaron sin marcar en absoluto. En otro estudio, biopsias por aspiración con aguja fina en parafina y fijadas con formol procedentes de 124 nódulos tiroideos fríos solitarios se marcaron con el anticuerpo. Las muestras se consideraron benignas si un 80% o más de las células con aspecto epitelial quedaban marcadas, y malignas si más del 20% de dichas células no lo eran. Se utilizaron como controles los cortes de tejidos procedentes de nódulos obtenidos durante una operación subsiguiente y marcados con el anticuerpo o teñidos con hematoxilina-eosina, respectivamente. No se ha observado ningún marcado en carcinomas de mama y colon, ni en melanomas carcinoides y metastásicos.

59. Tejidos normales: En el colon, las células de Goblet muestran una tinción citoplasmática de moderada a fuerte.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 19/23 adenocarcinomas de colon, 7/16 tumores ováricos mucinosos, 1/3 adenocarcinoma pancreático y 6/6 esófagos de Barrett. Estudios anteriores han demostrado la marcación de anticuerpos en el 94,4-100% de adenocarcinomas mucinosos de origen gastrointestinal, el 100% de metaplasia intestinal en el esófago de Barrett y el 51-90% de adenocarcinomas de colon con metástasis ovárica (5, 6). En 51/51 biopsias de pacientes con metaplasia de Barrett, no se detectó MUC2 en el epitelio escamoso, las glándulas submucosas esofágicas o en mucosa gástrica de tipo fúndico o cardiaco. En 6/6 casos sin mucosa de Barrett definida, no se detectó expresión de MUC2. No se observó marcado de MUC2 en 22/22 casos de adenocarcinoma mucinoso ovárico primario. También se registró ausencia de tinción de MUC2 en 10/10 carcinomas endometrioides ováricos y 12/12 cistadenomas mucinosos benignos.

60. Tejidos normales: En el colon, los axones de los nervios de la lámina muscular y en la lámina propia muestran una reacción a la tinción de fuerte a moderada, mientras que las células neuroendocrinas de la superficie epitelial muestran una reacción a la tinción de débil a moderada. En ocasiones, se puede observar el marcado citoplasmático de células caliciformes en el colon y el intestino delgado.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 4/4 carcinomas de pulmón de células pequeñas, 2/6 carcinomas de pulmón de células grandes, 2/2 carcinoides atípicos de pulmón, 3/3 carcinoides de colon, 5/5 carcinoides de intestino delgado, 1/1 neoplasia neuroendocrina de páncreas, 1/1 ganglioneuroma, 3/3 carcinomas medulares de tiroides, 2/3 adenocarcinomas de pulmón, 1/2 adenocarcinoma de pulmón no diferenciado, 2/4 adenocarcinomas de colon,



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

1/4 adenocarcinomas de intestino delgado, 1/2 adenocarcinoma de páncreas y 0/3 carcinomas papilares de tiroides.

61. Tejidos normales: En la amígdala, las células epiteliales escamosas muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En la próstata, las células epiteliales basales muestran una reacción a la tinción de débil a moderada. De forma esporádica, se puede observar marcado citoplasmático de granulocitos.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó células basales en 10/10 hiperplasias de próstata y células mioepiteliales en 5/5 carcinomas localizados de mama. El anticuerpo etiquetó 6/6 carcinomas de células escamosas de pulmón, 6/6 carcinomas de células escamosas de cuello uterino, 0/10 carcinomas de próstata, 3/3 carcinomas de mama, 4/6 adenocarcinomas de cuello uterino, 4/6 adenocarcinomas de pulmón.

62.

Cáncer de mama:

Antecedentes

El ensayo clínico (CTA) utilizado para identificar a los pacientes idóneos para participar en los estudios clínicos de Herceptin™ estaba destinado a usos en investigación y ya no se encuentra disponible. El HercepTest™ se desarrolló para ofrecer una alternativa comparable al CTA.

Se evaluaron la seguridad y la efectividad de Herceptin™ en un ensayo clínico controlado y aleatorizado y en un ensayo abierto de dimensiones considerables (véase el prospecto de Herceptin™). Todos los pacientes seleccionados para los ensayos clínicos de Herceptin™ mostraron una sobreexpresión de la proteína HER2 en pruebas inmunocitoquímicas realizadas con el CTA en un laboratorio central. Se consideraba que los pacientes que cumplían con los criterios para las pruebas con Herceptin™ eran aquellos cuyos tumores tenían niveles 2+ o 3+ de sobreexpresión de proteína HER2 (basándose en una escala del 0 al 3+, donde 3+ representaba el nivel más alto).

El análisis de subgrupo de los resultados de estos estudios indica que los pacientes cuyos tejidos muestran una sobreexpresión de proteína HER2 fuertemente positiva (3+) pueden obtener mayores beneficios de Herceptin™ que aquellos con resultados menos positivos (2+). Así pues, el grado de sobreexpresión de la proteína HER2 puede ser un factor de predicción importante del efecto del tratamiento con Herceptin™. Puesto que ninguno de los pacientes de los estudios de Herceptin™ se seleccionó a través del HercepTest™, se



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

desconoce la correlación entre el grado de positividad y la probabilidad de beneficio clínico del tratamiento con Herceptin™.

Estudios comparativos

Se realizaron dos estudios para caracterizar el HercepTest™.

- 1) Comparación con el ensayo clínico (CTA)
- 2) Precisión al compararlo con otros cinco ensayos.

Comparación con el ensayo clínico (CTA)

Se comparó el HercepTest™ con el CTA utilizado para identificar a los pacientes idóneos para la terapia con Herceptin™ mediante 274 especímenes con sobreexpresión de proteína HER2 positiva (2+ ó 3+) y un número igual de especímenes de tejido mamario canceroso con sobreexpresión de proteína HER2 negativa. En la tabla 4 se incluyen los resultados en un diagrama 2 x 2, en el que 0 y 1+ se consideraron resultados negativos y 2+ y 3+, resultados positivos.

Tabla 4: Concordancia de 2 x 2 del HercepTest™ con el ensayo de pruebas clínicas (número de muestras).

		Ensayo de pruebas clínicas		Total
		Positivo	Negativa	
HercepTest™	Positivo	216	59	275
	Negativa	58	215	273
Total		274	274	548

Concordancia: 79%, intervalo de confianza al 95% (76–82%).

La concordancia binaria total del HercepTest™ comparado con el CTA fue de un 79% (431 de los 548 casos), con un intervalo de confianza 2 x 2 al 95% de 76–82%. El veintiuno por ciento (21%) de los resultados eran discordantes entre los dos métodos.

Los resultados del HercepTest™ se informan en una escala de 0 a 3+ y se interpretan como negativo en la sobreexpresión de la proteína HER2 (intensidad de tinción 0 y 1+), positivo débil (intensidad de tinción 2+) y positivo fuerte (intensidad de tinción 3+).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 5: Concordancia de 3 x 3 del HercepTest™ y el ensayo de pruebas clínicas.

		Ensayo de pruebas clínicas			Total
		3+	2+	0 - 1+	
HercepTest™	3+	107	36	6	149
	2+	16	57	53	126
	0 - 1+	8	50	215	273
Total		131	143	274	548

Esta presentación 3 x 3 del estudio de concordancia indica que una lectura de 3+ en el HercepTest™ tiene una alta probabilidad de corresponderse con un resultado positivo en el CTA, lo que habría satisfecho los criterios de entrada del ensayo de Herceptin™ (2+ ó 3+). Los resultados de 2+ en HercepTest™ no mostraron una correlación tan buena con los resultados del CTA. Aproximadamente el 42% (53/126) de los resultados de HercepTest™ 2+ fueron negativos con el CTA (0–1+) lo cual impediría la entrada en las pruebas clínicas con Herceptin™.

Precisión

También se realizó una prueba del HercepTest™ con 2 portaobjetos de microscopio que contenían cortes de tejido incluidos en parafina procedentes de 168 tumores de mama. Estos tumores ya se habían caracterizado anteriormente con otros cinco métodos de determinación de la amplificación del gen HER2 y de sobreexpresión de la proteína HER2, como el Southern blot in situ, la hibridación in situ fluorescente (FISH) para la amplificación de ADN, el análisis de ARN de Northern blot, Western blot e inmunocitoquímica en tejidos congelados. Los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6: Comparación del HercepTest™ con los resultados combinados (OE) de pruebas de amplificación del gen y sobreexpresión de la proteína HER2.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		Clasificación de la referencia OE		Total
		+	-	
HercepTest™	+	43	0	43
	-	26	99	125
Total		69	99	168

Coincidencia positiva: $43/69 = 62\%$

Coincidencia negativa: $99/99 = 100\%$

Los resultados mostraban un nivel de confianza del 85% (142 de los 168 casos; intervalo de confianza al 95% de 78–89%) entre la intensidad de tinción positiva (2+ y 3+) y negativa (0 y 1+) en el HercepTest™. Ninguna de las muestras negativas en los otros cinco métodos resultaron positivas en el HercepTest™, aunque los resultados combinados de los otros cinco métodos presentaban un mayor número de casos positivos.

Reproducibilidad

Reproducibilidad intraensayo

la reproducibilidad interna se probó en un laboratorio con 5 especímenes con diferentes intensidades de tinción en inmunocitoquímica. Cada espécimen se probó por triplicado en formato aleatorio enmascarado. Este protocolo se utilizó con tinción automática. Todos los especímenes dieron un 100% de resultados reproducibles.

Reproducibilidad interensayo

La reproducibilidad entre secuencias se probó en tres laboratorios durante un periodo de 4 días con 5 especímenes con diferentes intensidades de tinción en inmunocitoquímica aleatorizados y enmascarados, utilizando una metodología automatizada. Se observó una reproducibilidad excelente para los resultados positivos en comparación con los resultados negativos (0 y 1+ frente a 2+ y 3+), con la excepción de dos muestras de un laboratorio que variaban entre 1+ y 2+. Hubo un 100% de reproducibilidad de las muestras con 2+ y 3+.



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Reproducibilidad interlaboratorio

Se probó la reproducibilidad entre laboratorios en tres laboratorios separados geográficamente con 40 especímenes idénticos aleatorizados y enmascarados con diferentes intensidades de tinción en inmunocitoquímica. Se enviaron portaobjetos recién cortados a cada uno de los laboratorios para que se realizara una tinción automática y un patólogo evaluara los resultados. El porcentaje de coincidencia entre laboratorios iba de un 83% a un 90% en el caso de la determinación dicotómica positivo/negativo, en la que 0 y 1+ eran resultados negativos y 2+ y 3+ eran resultados positivos de la sobreexpresión de la proteína HER2. En comparación con los resultados obtenidos en el laboratorio de referencia que había realizado el CTA, un 12,5% (15 de los 120 casos) de los resultados comparados discrepaban en cuanto a la determinación de resultado negativo (0 y 1+) y positivo (2+ y 3+). Además, otro 10% (12 de los 120 casos) de los resultados discrepaba en cuanto a la clasificación en 2+ o en 3+.

Inmunorreactividad

En la tabla 7 aparece un resumen de la inmunorreactividad del HercepTest™ junto con el panel recomendado de tejidos normales. Todos los tejidos se fijaron con formol y se incluyeron en parafina, y se tiñeron con HercepTest™ según las instrucciones del prospecto.

Tabla 7: Resumen de la reactividad de tejido normal en el HercepTest™.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tipo de tejido (N.º analizado)	Tinción del elemento tisular positivo y patrón de tinción
Suprarrenal (3)	None (Ninguno)
Médula ósea (3)	None (Ninguno)
Encéfalo/cerebelo (3)	None (Ninguno)
Encéfalo/cerebro (3)	None (Ninguno)
Mama (3)	Glándula mamaria y epitelio ductal (2/3 tejidos, intensidad de tinción 1+, >10% de las células, tinción de membrana incompleta)
Cuello uterino (3)	None (Ninguno)
Colon (3)	None (Ninguno)
Esófago (3)	None (Ninguno)
Corazón (3)	None (Ninguno)
Riñón (3)	None (Ninguno)
Hígado (3)	None (Ninguno)
Pulmón (3)	None (Ninguno)
Células mesoteliales (3)	None (Ninguno)
Ovario (3)	None (Ninguno)
Páncreas (3)	None (Ninguno)
Paratiroides (3)	Células principales (células oxífilas, 2/3 tejidos, intensidad de tinción 1+, >50% de las células, membrana y citoplasma)
Nervio periférico (3)	None (Ninguno)
Hipófisis (3)	None (Ninguno)
Próstata (3)	None (Ninguno)
Glándula salivar (3)	None (Ninguno)
Músculo esquelético (3)	None (Ninguno)
Piel (3)	Epitelio de la capa basal (2/3 tejidos, intensidad de tinción 1-2+, >10% de las células, membrana y citoplasma)
Intestino delgado (3)	None (Ninguno)
Bazo (3)	None (Ninguno)
Estómago (3)	Células principales (1/3 tejidos, intensidad de tinción 1-2+, >10% de las células, citoplasma)
Testículo (3)	None (Ninguno)
Timo (3)	None (Ninguno)
Tiroides (3)	None (Ninguno)
Amígdala (3)	None (Ninguno)
Útero (3)	Células epiteliales glandulares (2/3 tejidos, intensidad de tinción 0-1+, >50% de las células, citoplasma)

La tinción registrada en todos los tejidos se refiere a la membrana, a menos que se indique lo contrario. Las tres muestras de cada tipo de tejido tuvieron la misma intensidad de tinción, a menos que se indique lo contrario.

Cáncer gástrico

Antecedentes

La seguridad y eficacia de trastuzumab (Herceptin®) se ha demostrado en un estudio clínico (el ToGA Trial). El estudio fue diseñado como un estudio multicéntrico de fase III, abierto, aleatorizado realizado en pacientes con HER2 positivo con adenocarcinoma inoperable localmente avanzado, recurrente y/o metastásico de estómago o de la unión gastroesofágica. La positividad para HER2 en el ToGA Trial se definió según si era



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Grupo 1 (“grupo de baja expresión de HER2”):

IHC 0/FISH+ e IHC 1+/FISH+ (n=131)

Grupo 2 (“grupo de alta expresión de HER2”):

IHC 2+/FISH+ e IHC 3+ (FISH+ o FISH- o FISH sin resultado (n=446)

Cuando se repitió el análisis principal de la SG con posterioridad para el “grupo de alta expresión de HER2” (n = 446) el beneficio a favor del tratamiento combinado fue incluso mayor. La mediana de la SG del grupo de pacientes que habían recibido quimioterapia más trastuzumab aumentó a 16,0 meses en comparación con 11,8 meses de los pacientes que solamente recibieron quimioterapia. El índice de riesgo de este análisis disminuyó a 0,65 (IC 95%: 0,51–0,83). Las curvas de SG de Kaplan-Meier para el “grupo de alta expresión de HER2” se muestran en la figura 2.

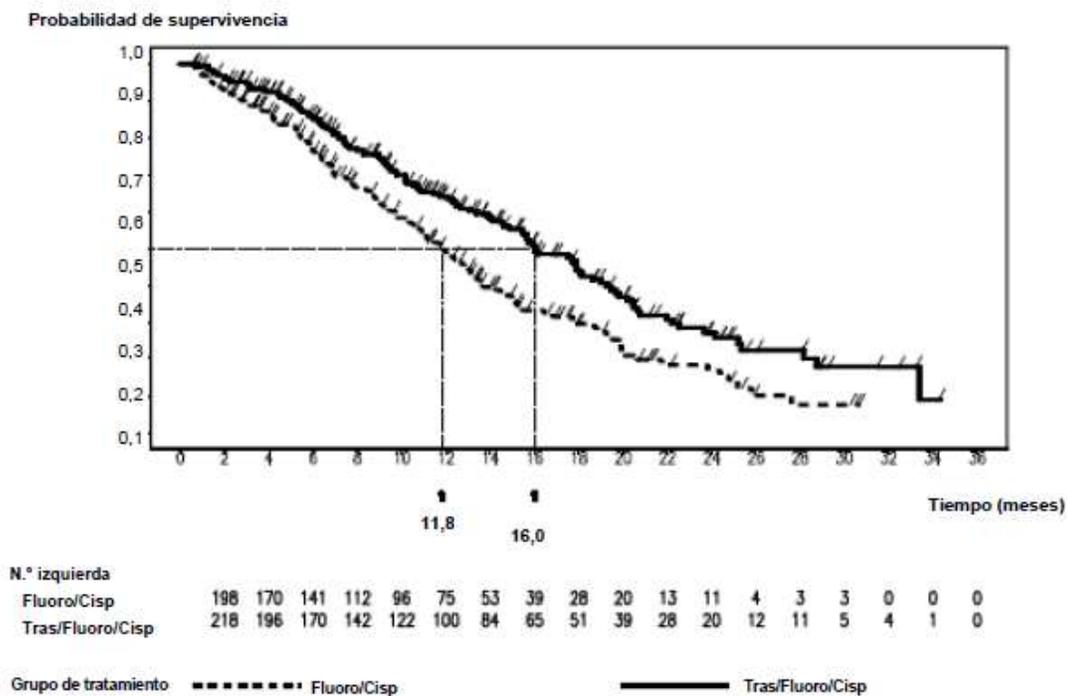


Figura 2. Curva de SG de Kaplan-Meier para el “grupo de alta expresión de HER2” (n=446).

El ToGA Trial ha demostrado que la combinación de las pruebas de ICH y FISH son predictivas para el efecto del tratamiento combinado de quimioterapia y trastuzumab; no obstante, los análisis exploratorios posteriores parecen indicar que los pacientes con altos niveles de expresión de la proteína HER2 (IHC2+/FISH+ y IHC3+) experimentan un


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

beneficio mayor. Esto puede explicarse por el hecho de que la proteína es la diana de trastuzumab. Si desea obtener más información sobre el ToGA Trial, consulte el prospecto de Herceptin®.

Reproducibilidad

Reproducibilidad intraensayo

La reproducibilidad interna se probó en un laboratorio con 3 muestras con diferentes intensidades de tinción en IHC. Cada muestra se probó por triplicado. Este protocolo se utilizó con tinción automática. Todos los especímenes dieron un 100% de resultados reproducibles. la reproducibilidad interna se probó en un laboratorio con 11 muestras con diferentes intensidades de tinción en IHC. Cada muestra se probó por triplicado. Este protocolo se utilizó con tinción manual. Todos los especímenes dieron un 100% de resultados reproducibles.

Reproducibilidad entre secuencias y entre laboratorios

Se realizaron los análisis con HercepTest™ de 60 muestras de cáncer gástrico diferentes, obtenidas de áreas del estómago y de la unión gastroesofágica que representaban resecciones y biopsias quirúrgicas, en cinco días alternos en tres centros de estudio. Las 60 muestras del estudio se distribuyeron equitativamente en las tres categorías de estado en cuanto a HER2. Seis patólogos realizaron un total de 2040 puntuaciones de la HER2. Cada día el consenso (negativo, ambiguo, positivo) variaba del 83,1% al 98,3%. En 47 de 60 comparaciones posibles, los consensos fueron del 90,0% o superior. En Tabla 11, se muestran los ejemplos específicos de las comparaciones realizadas cada día con una media de consensos del 91,2%, 92,5% y 92,5% para los tres centros.

Los consensos entre todos los centros fueron del 82,7%, 75,0% y 88,0%, respectivamente para la comparación en los centros por pares (consulte Tabla 12). Según la prueba exacta de Fisher, los resultados fueron los mismos entre los centros.

Los consensos de todos los observadores entre los patólogos en cada centro fueron del 88,0%, 83,6% y 81,0% para los tres centros de estudio, respectivamente (Tabla 13).

En conclusión, los análisis realizados con HercepTest™ de las muestras de cáncer gástrico en los tres centros de estudio demostraron un buen consenso entre observaciones en cuanto a los días, centros y observadores.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 11. Consensos totales diarios en porcentaje - Subconjunto de 12 de 60 comparaciones

		Observador 1		Observador 2		Consenso medio
		Consenso	CI95 LL ¹	Consenso	CI95 LL ¹	
Centro 1	Día 1 vs. Día 2	85,0	74,4	93,3	84,9	91,2
	Día 3 vs. Día 4	93,3	84,9	93,3	84,9	
Centro 2	Día 1 vs. Día 2	95,0	87,3	83,1	72,0	92,5
	Día 3 vs. Día 4	96,7	89,7	95,0	87,3	
Centro 3	Día 1 vs. Día 2	90,0	80,5	91,7	82,7	92,5
	Día 3 vs. Día 4	96,7	89,7	91,7	82,7	

¹CI95 LL: intervalo de confianza límite inferior al 95%.

Tabla 12. Consensos totales entre los centros en porcentaje

		Consenso	CI95 LL ¹	Consenso medio
Centro 1 vs. Centro 2	Día 1 vs. Día 1	83,3	72,4	
	Día 2 vs. Día 2	85,0	74,4	
	Día 3 vs. Día 3	85,0	74,4	
	Día 4 vs. Día 4	81,7	70,5	
	Día 5 vs. Día 5	78,3	66,7	
Centro 1 vs. Centro 3	Día 1 vs. Día 1	80,0	68,6	75,0
	Día 2 vs. Día 2	73,3	61,2	
	Día 3 vs. Día 3	78,3	66,7	
	Día 4 vs. Día 4	68,3	55,9	
	Día 5 vs. Día 5	75,0	63,0	
Centro 2 vs. Centro 3	Día 1 vs. Día 1	88,3	78,5	88,0
	Día 2 vs. Día 2	86,7	76,4	
	Día 3 vs. Día 3	90,0	80,5	
	Día 4 vs. Día 4	86,7	76,4	
	Día 5 vs. Día 5	88,3	78,5	

¹CI95 LL: intervalo de confianza límite inferior al 95%.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 13. Consensos entre Observadores en porcentaje

		Consenso	CI 95 LL ¹	Consenso medio
Centro 1	Día 1	91,7	82,7	88,0
	Día 2	91,7	82,7	
	Día 3	93,3	84,9	
	Día 4	83,3	72,4	
	Día 5	80,0	68,6	
Centro 2	Día 1	86,4	76,0	83,6
	Día 2	83,3	72,4	
	Día 3	83,3	72,4	
	Día 4	83,3	72,4	
	Día 5	81,7	70,5	
Centro 3	Día 1	80,0	68,6	81,0
	Día 2	78,3	66,7	
	Día 3	80,0	68,6	
	Día 4	78,3	66,7	
	Día 5	90,0	80,5	

¹CI 95 LL: nivel de confianza inferior a 95%.

Inmunorreactividad

En la tabla 14 aparece un resumen de la inmunorreactividad del HercepTest™ junto con el panel recomendado de tejidos normales. Todos los tejidos se fijaron con formol y se incluyeron en parafina, y se tiñeron con HercepTest™ según las instrucciones del prospecto.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 14. Resumen de la reactividad de tejido normal en el HercepTest™.

Tipo de tejido (N.º analizado)	Tinción del elemento tisular positivo y patrón de tinción
Suprarrenal (3)	None (Ninguno)
Médula ósea (3)	None (Ninguno)
Encéfalo/cerebelo (3)	None (Ninguno)
Encéfalo/cerebro (3)	None (Ninguno)
Mama (3)	Glándula mamaria y epitelio ductal (2/3 tejidos, intensidad de tinción 1+, >10% de las células, tinción de membrana incompleta)
Cuello uterino (3)	None (Ninguno)
Colon (3)	None (Ninguno)
Esófago (3)	None (Ninguno)
Corazón (3)	None (Ninguno)
Riñón (3)	None (Ninguno)
Hígado (3)	None (Ninguno)
Pulmón (3)	None (Ninguno)
Células mesoteliales (3)	None (Ninguno)
Ovario (3)	None (Ninguno)
Páncreas (3)	None (Ninguno)
Paratiroides (3)	Células principales (células oxífilas, 2/3 tejidos, intensidad de tinción 1+, >50% de las células, membrana y citoplasma)
Nervio periférico (3)	None (Ninguno)
Hipófisis (3)	None (Ninguno)
Próstata (3)	None (Ninguno)
Glándula salivar (3)	None (Ninguno)
Músculo esquelético (3)	None (Ninguno)
Piel (3)	Epitelio de la capa basal (2/3 tejidos, intensidad de tinción 1-2+, >10% de las células, membrana y citoplasma)
Intestino delgado (3)	None (Ninguno)
Bazo (3)	None (Ninguno)
Estómago (3)	Células principales (1/3 tejidos, intensidad de tinción 1-2+, >10% de las células, citoplasma)
Testículo (3)	None (Ninguno)
Timo (3)	None (Ninguno)
Tiroides (3)	None (Ninguno)
Amígdala (3)	None (Ninguno)
Útero (3)	Células epiteliales glandulares (2/3 tejidos, intensidad de tinción 0-1+, >50% de las células, citoplasma)

La tinción registrada en todos los tejidos se refiere a la membrana, a menos que se indique lo contrario. Las tres muestras de cada tipo de tejido tuvieron la misma intensidad de tinción, a menos que se indique lo contrario.

63. Anti-IMP3 efectúa una inmunotinción de una serie de tipos de células normales, si bien la intensidad de la tinción de la mayoría de los tipos de células marcados suele ser baja. Se ha observado una inmunotinción intensa en ovocitos, epitelio glandular del estómago y epitelio escamoso y células del centro germinal de la amígdala.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados
Amígdala (3)	3/3 células del centro germinal (70%), células epiteliales escamosas (30%), citoplasmático
Bazo (3)	0/3
Células mesoteliales pericárdicas (2)	2/2 (100%), citoplasmático
Colon (3)	3/3 células epiteliales glandulares (70%), citoplasmático
Corazón (3)	0/3
Cuello uterino (3)	1/3 células endocervicales (100%), citoplasmático
Encéfalo/cerebelo (3)	3/3 células de la capa molecular (100%), citoplasmático
Encéfalo/cerebro (3)	0/3
Esófago (3)	1/3 células escamosas de las mucosas (5%), citoplasmático
Estómago (3)	3/3 células epiteliales glandulares (<10-30%), citoplasmático
Glándula salivar (3)	0/3
Hígado (3)	0/3
Hipófisis (3)	3/3 pituicitos (20-60%), citoplasmático
Intestino delgado (3)	0/3



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Mama (3)	3/3 células epiteliales ductales y lobulares (<5-20%), citoplasmático
Médula ósea (3)	0/3
Músculo esquelético (3)	0/3
Nervio (3)	0/3
Ovario (3)	2/3 ovocitos (100%), citoplasmático y nuclear; 1/3 células granulosas (100%), citoplasmático
Páncreas (3)	3/3 células de los islotes 2/3 (100%), citoplasmático y de la membrana; 1/3 acinos (30%), citoplasmático
Paratiroides (3)	0/3
Piel (3)	1/3 células epiteliales de los folículos pilosos (40%), citoplasmático
Próstata (3)	0/3
Pulmón (3)	3/3 células epiteliales bronquiales (90%), citoplasmático
Riñón (3)	0/3
Suprarrenal (3)	3/3 células corticales suprarrenales (<5-50%), citoplasmático
Testículo (3)	3/3 espermatogonias (50%), células de Sertoli (90%), citoplasmático y nuclear
Timo (3)	3/3 células epiteliales del timo (100%), citoplasmático
Tiroides (3)	0/3
Útero (3)	2/3 células endometriales (<5-60%), citoplasmático

Tejidos anormales (4.9-19):

Tipo de tejido (n.º analizado)	Tumores marcados
Carcinoma anal (10)	2/10
Carcinoma colorrectal (37)	18/37
Carcinoma de células renales (24)	3/24
Carcinoma de cuello uterino (44)	41/44
Carcinoma de cuello uterino (9)	5/9
Carcinoma de esófago (14)	10/14
Carcinoma de estómago (25)	15/25
Carcinoma de glándula salival (10)	0/10
Carcinoma de glándula tiroidea (24)	4/24
Carcinoma de mama (26)	2/26
Carcinoma de vejiga (115)	58/115
Carcinoma endometrial (174)	77/174
Carcinoma hepático (395)	259/395
Carcinoma neuroendocrino, extrapulmonar (53)	47/53
Carcinoma neuroendocrino, pulmonar (14)	14/14
Carcinoma pancreático (98)	91/98
Carcinoma paratiroideo (3)	0/3
Carcinoma pulmonar (30)	22/30
Colangiocarcinoma (4)	3/4
Melanoma (27)	23/27
Mesotelioma (11)	10/11



Bioq. Alicia Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

64. Tejidos normales:

Las células epiteliales muestran una reacción de tinción citoplásmica o membranosa de moderada a fuerte. Cabe destacar que se puede observar tinción de células reticulares en tejidos linfoides.

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados
Amígdala (3)	3/3	Médula ósea (3)	0/3
Bazo (3)	3/3	Músculo esquelético (3)	0/3
Células mesoteliales (3)	2/3	Nervio, periférico (3)	0/3
Cerebelo (3)	0/3	Ovario (3)	3/3
Cerebro (3)	0/3	Páncreas (3)	3/3
Colon (3)	3/3	Paratiroides (3)	3/3
Corazón (3)	0/3	Piel (3)	3/3
Cuello uterino (3)	1/3	Próstata (3)	3/3
Esófago (3)	3/3	Pulmón (3)	3/3
Estómago (3)	3/3	Riñón (3)	3/3
Glándula salivar (3)	3/3	Suprarrenal (3)	3/3
Hígado (3)	3/3	Testículo (3)	2/3
Hipófisis (3)	1/3	Timo (3)	3/3
Intestino delgado (3)	3/3	Tiroides (3)	3/3
Mama (3)	3/3	Útero (3)	1/3

Tejidos anómalos:

Las células epiteliales muestran una reacción de tinción citoplásmica o membranosa de moderada a fuerte (41/56).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados
Carcinoma hepatocelular (3)	3/3	Melanoma (3)	0/3
Carcinoma de células renales (3)	3/3	Carcinoma no diferenciado (3)	1/3
Carcinoma renal papilar (3)	3/3	Leiomioma (1)	0/1
Adenocarcinoma de pulmón (2)	2/2	Rabdomiosarcoma (1)	0/1
Carcinoma escamoso de pulmón (1)	1/1	Tumor carcinoide intestinal (2)	2/2
Carcinoma pulmonar de células pequeñas (3)	3/3	Carcinoma ovárico (2)	2/2
Adenocarcinoma gástrico (3)	3/3	Tejido fibrótico (2)	0/2
Adenocarcinoma pancreático (3)	3/3	Teratoma (maduro) (1)	0/1
Carcinoma papilar de tiroides (3)	3/3	Teratoma (inmaduro) (1)	0/1
Carcinoma ductal de mama (3)	3/3	Leiomioma (2)	1/2
Carcinoma lobular de mama (3)	3/3	Linfoma difuso de células B grandes (2)	0/2
Adenocarcinoma prostático (3)	2/3	Linfoma de células T (2)	0/2
Adenocarcinoma de colon (3)	3/3	Linfoma folicular (2)	0/2

65. Tejidos normales: El anticuerpo marca las neuronas de la corteza cerebral humana y de los núcleos del tronco cerebral. Además, el anticuerpo marca las células ganglionares del tubo digestivo humano y de las fibras nerviosas mielinizadas y no mielinizadas. En testículos normales de adultos, el anticuerpo muestra una débil inmunotinción de las espermatogonias. En el colon, las células ganglionares del plexo de Auerbach muestran una reacción de tinción citoplasmática y nuclear de moderada a fuerte, mientras que los axones aislados en la muscularis externa muestran una reacción de tinción citoplasmática de leve a moderada.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó los tumores que derivaban de o que contenían neuronas, células ganglionares y nervios periféricos. No obstante, también se pueden marcar de forma específica los tumores no derivados de neuronas, tales como meningiomas, meduloblastomas, astrocitomas, glioblastomas, oligoastrocitomas, oligodendrogliomas, adenomas de hipófisis, schwannomas, ependimomas, meningiosarcomas, gliosarcomas y metástasis de distintos orígenes, es decir, melanomas, carcinomas pulmonares de células pequeñas y carcinomas no diferenciados. Además, el anticuerpo marcó los tumores de células germinales, es decir carcinomas testiculares in situ, seminomas y carcinomas embrionarios.


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

66. Tejidos normales: En la amígdala, los neutrófilos, eosinófilos y macrófagos centrales germinales muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte. En el riñón, los túbulos proximales y distales muestran una reacción de tinción de débil a fuerte.

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados
Amígdala (3)	2/3 epitelio escamoso superior (50-100%), citoplasmático
Bazo (3)	3/3 células mieloides (100%), citoplasmático
Células mesoteliales (3)	2/3 células mesoteliales (100%), citoplasmático
Colon (2)	1/2 epitelio glandular mucoso (50%), punteado, apical, citoplasmático 1/2 epitelio mucoso (20%), apical citoplasmático
Corazón (3)	0/3
Cuello uterino (2)	0/2
Encéfalo/cerebelo (3)	3/3 materia blanca, materia gris (100%), difuso
Encéfalo/cerebro (3)	3/3 materia blanca, materia gris (100%), difuso
Esófago (2)	2/2 epitelio escamoso no basal (100%), citoplasmático
Estómago (3)	3/3 mucosa gástrica (100%), citoplasmático
Glándula salivar (3)	1/3 epitelio ductal (100%), apical citoplasmático 1/3 epitelio glandular (20%), citoplasmático
Hígado (3)	1/3 endotelio sinusoidal (40%), citoplasmático
Hipófisis (3)	3/3 células endocrinas de la adenohipófisis (75-100%), citoplasmático 2/3 neurófilos de la neurohipófisis (75-100%), difuso
Intestino delgado (3)	1/3 epitelio mucoso (20%), apical citoplasmático
Mama (2)	2/2 epitelio ductal (25-100%), citoplasmático
Médula ósea (3)	2/3 mielocitos (100%), citoplasmático 1/3 todas las células (100%), citoplasmático
Músculo esquelético (3)	0/3
Nervio (3)	0/3
Ovario (3)	0/3
Páncreas (3)	2/3 células acinares (25-50%), citoplasmático
Paratiroides (3)	0/3
Piel (3)	0/3
Próstata (2)	1/2 epitelio glandular (50%), citoplasmático
Pulmón (3)	0/3
Riñón (3)	3/3 epitelio tubular cortical (100%), citoplasmático 2/3 endotelio cortical y medular (100%), citoplasmático
Suprarrenal (3)	3/3 células endocrinas de la corteza suprarrenal (100%), citoplasmático
Testículo (3)	0/3
Timo (3)	2/3 corpúsculos de Hassall (100%), no celular
Tiroides (2)	0/2
Útero (2)	2/2 epitelio glandular (15-75%), citoplasmático

Tejidos anómalos: En 18 casos de linfoma de Hodgkin clásico, el anticuerpo marcó 8/8 casos de esclerosis nodular, 7/7 casos de celularidad mixta y 1/3 casos sin linfocitos.

67. Tejidos normales: Las células epiteliales ductales de la hiperplasia de mama deben presentar al menos una reacción a la tinción citoplasmática focal de intensidad moderada a fuerte. Las células epiteliales en las glándulas sudoríparas de la piel deben presentar al menos una reacción a la tinción citoplasmática focal de intensidad moderada a fuerte. En el caso de las células epiteliales escamosas de la piel debería ser negativa.



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Resumen de la reactividad en tejido normal:

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos
Mama (10)	5/10 células epiteliales ductales	Duodeno (2)	0/2
Colon (5)	0/5	Vesícula biliar (1)	0/1
Riñón (6)	0/6	Íleon (2)	0/2
Hígado (3)	0/3	Ovario (4)	0/4
Pulmón (4)	0/4	Páncreas (2)	0/2
Cerebro (3)	0/3	Glándula parótida (1)	0/1
Corazón (2)	0/2	Próstata (4)	0/4
Médula ósea (1)	0/1	Bazo (3)	0/3
Suprarrenal (3)	0/3	Testículo (1)	0/1
Cuello uterino (2)	0/2	Músculo esquelético (1)	0/1
Piel (7)	7/7 células epiteliales que rodean las glándulas sudoríparas apocrinas y ecrinas	Endometrio (3)	0/3

Tejidos anómalos:

Resumen de la reactividad en tejido anómalo:

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos
Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (20)	0/20	Adenocarcinoma de páncreas (3)	0/3
Adenocarcinoma de mama (238)	114/238	Adenocarcinoma de cuello uterino (4), carcinoma de células escamosas (10)	0/14
Adenocarcinoma de cáncer de pulmón de células no pequeñas (79), carcinoma de células escamosas (17), otros (10)	0/106	Adenocarcinoma endometrial (9)	1/9
Adenocarcinomas de esófago (1), carcinoma de células escamosas (8)	0/9	Adenocarcinoma de ovario (10), adenoma (3)	0/13
Adenocarcinoma de estómago (19)	0/19	Carcinoma de tiroides papilar (8)	0/8
Adenocarcinoma de colon (16)	0/16		

68. Tejidos normales: En un embrión humano de 20 días, el anticuerpo marca las células endodérmicas de la superficie interna del saco vitelino. También se observa en la AFP amniótica.

Tejidos anómalos: Se analizaron con el anticuerpo 189 muestras de orquidectomía con tumores de células germinales (95 seminomas puros y 94 no seminomas). No se marcó ningún seminoma, mientras que se marcaron el 66% de los no seminomas. Se marcaron el




 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGDANOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

21% de los carcinomas embrionarios puros (EC), el 25% de los componentes EC en tumores mixtos, todos los componentes de tumores del saco vitelino, el 20% de los teratomas puros (T) y el 47% de los componentes T. El carcinoma in situ en los túbulos seminíferos adyacentes a los tumores nunca se marcó. En el cáncer de estómago con altas concentraciones séricas de AFP, el anticuerpo marcó 19/35 (54%). Focalmente, las células neoplásicas del carcinoma embrionario muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte.

69. Tejidos normales: Se observa el marcado positivo con el anticuerpo en algunas células de Langerhans y melanocitos de la piel, células reticulares interdigitantes en ganglios linfáticos, células reticulares epiteliales medulares en el timo, condrocitos en tejido cartilaginoso, adipocitos en algunas células mioepiteliales en glándulas salivales y mamas, pero no en otras biopsias, células foliculares estrelladas de la hipófisis y células de Schwann y gliales del tejido nervioso. Las células epiteliales de las glándulas mamarias y sudoríparas presentan un marcado débil. No se observa inmunoreactividad con el anticuerpo en hepatocitos normales, epitelio del conducto biliar, epitelio de vesícula biliar, epitelios de esófago, estómago e intestino delgado y grueso, epitelio renal y células uroteliales y endoteliales. En el colon, las células satelitales de los nervios periféricos del plexo de Auerbach muestran una reacción de tinción nuclear y citoplasmática de moderada a fuerte, mientras que los adipocitos y las células ganglionares del plexo de Auerbach muestran una reacción nuclear y citoplasmática de leve a moderada.

Tejidos anormales: De los melanomas malignos, el anticuerpo marcó 31/31 (100%) melanomas cutáneos convencionales, 23/24 (96%) metastásicos, incluidos 10 amelanóticos, 6/6 desmoplásicos y 1/1 malignos mixoides. En 30 nevos benignos y 15 displásicos, se observó marcado homogéneo universal en todos los casos. En otro estudio de melanomas cutáneos malignos primarios, 67/67 (100%) se marcaron con el anticuerpo, incluidos 5/5 tumores desmoplásicos y de células fusiformes. En 27 casos de histiocitosis de Langerhans, el anticuerpo marcó el 88,5%, tanto en caso de enfermedad localizada como diseminada. En los 30 condroblastomas examinados se observó un marcado fuerte de los condroblastos con el anticuerpo. De los schwannomas benignos típicos, el anticuerpo marcó 12/12, y también 2/4 schwannomas malignos. De los neurofibromas, 6/6 mostraron una expresión leve de la S100, excepto en algunas células aisladas y en varios procesos de células de tipo anguila que resultaron claramente marcadas. Cabe resaltar que la S100 se expresó en 15/133



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

neoplasias cutáneas primarias no melanocíticas, esto es, 7/16 carcinomas de glándulas ecrinas, 2/8 carcinomas viscerales metastásicos, 2/2 schwannomas malignos y 4/5 leiomiomas. De los adenocarcinomas primarios, el anticuerpo marcó 24/25 (84%) adenocarcinomas ováricos, 12/15 (80%) de glándulas salivales, 28/36 (78%) de endometrio, 15/23 (65%) renales, 12/20 (60%) mamarios, 7/28 (25%) de colon/recto, 2/10 (20%) de estómago y 2/27 (7%) pulmonares. En este estudio no se marcaron los adenocarcinomas de esófago, vesícula biliar, páncreas y próstata. La mayoría de las neoplasias primarias que expresaron S100 también se tiñeron para esta proteína en focos metastásicos. De los rhabdomiomas, este anticuerpo marcó 7/60 (12%). Los tumores marcados con S100 también se tiñeron para vimentina y desmina.

70. Tejidos normales: El anticuerpo marca hepatocitos normales y leucocitos polimorfonucleares, monocitos y sus precursores. El anticuerpo no marca los linfocitos, las células E en roseta, los linfocitos activados con Con A, linfocitos citolíticos espontáneos, eritrocitos y megacariocitos. En la amígdala, los macrófagos y los granulocitos neutrófilos muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En el hígado, los hepatocitos muestran una reacción a la tinción de débil a moderada.

Tejidos anómalos: En 13 pacientes con diferentes enfermedades hepáticas, el anticuerpo marcó los hepatocitos con y sin glóbulos AAT. En muestras con glóbulos, se puede usar una dilución mayor del anticuerpo, que indica una mayor concentración de AAT en estas muestras.

71. Tejidos normales: En la placenta del primer trimestre, el anticuerpo marca abundantes gránulos citoplasmáticos de los sincitiotroblastos, algunos de ellos con exocitosis. En la placenta, los trofoblastos y los sincitiotroblastos muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte.

Tejidos anómalos: Se estudiaron 189 muestras de orquidectomía con tumores de células germinales (95 seminomas puros y 94 no seminomas). Se observó hCG en todos los componentes de coriocarcinomas en los sincitiotroblastos y en las células de tipo sincitiotroblástico en un 8% de los seminomas y en un 30% de los no seminomas. El carcinoma in situ presente en los túbulos seminíferos adyacentes a los tumores se marcó en unos pocos casos.

72. Tejidos normales: El anticuerpo marca la tiroglobulina en los folículos tiroideos y en la superficie apical de los tirocitos. La tiroglobulina se encuentra en las células foliculares de la



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

glándula tiroides y, en menor medida, en el tejido intersticial y el estroma tiroideo debido a la filtración normal. Las células cuboidales y las células epiteliales foliculares columnares de la glándula tiroides deben mostrar una reacción de débil a moderada a la tinción citoplasmática, mientras que los coloides extracelulares muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción.

Tejidos anormales: En las glándulas hiperplásicas, se ha detectado tiroglobulina en folículos y en las células glandulares de los folículos más pequeños. Este anticuerpo tiñó los carcinomas papilares, foliculares y medulares que producen múltiples hormonas. También se ha detectado la tiroglobulina en los carcinomas foliculares de células claras mientras que no se marcaron otras neoplasias de células claras. También han sido reactivas algunas células fusiformes anaplásicas y de carcinomas de células gigantes. Los sarcomas o los carcinomas metastásicos no se marcaron.

73. Tejidos normales: El anticuerpo marca las células C parafoliculares de la glándula tiroides. No se observa un marcado en la glándula suprarrenal.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó los carcinomas medulares de tiroides. Además, el anticuerpo marcó 6/28 feocromocitomas, 7/37 carcinoides de duodeno, 2/24 carcinoides gástricos, y células tumorales en 11/15 casos; y células de superficie en 2/15 casos de hemangioma esclerosante de pulmón. No se observó marcado en 27 casos de carcinomas corticosuprarrenales.

74. Tejidos normales: El anticuerpo marca los astrocitos del cerebro, las células foliculoestrelladas de la hipófisis, las células de Schwann y las células gliales entéricas. Además, se marcan las células mioepiteliales de la mama. En el cerebro, los astrocitos muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte. En el colon, las células ganglionares y los plexos de Auerbach y Meissner muestran una reacción de tinción de débil a moderada. No se observa tinción en la vejiga, en el tejido conectivo, hígado, tejido linfático, músculo, páncreas, piel y uréter.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó la totalidad de los 23 glioblastomas multiformes (GBM). En 20 de los 23 GBM, como mínimo el 50% de las células malignas fueron positivas para GFAP. Solo se marcaron 3 de los 22 casos de carcinoma metastásico del cerebro. Este marcado resultó focal y limitado a menos del 10% de las células malignas. 5/5 astrocitomas hemisféricos del tipo granular raro mostraron marcado focal respecto a GFAP con el anticuerpo, que también marcó 7/7 xantastrocitomas pleomórficos, así como las células



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

foliculoestrelladas del lóbulo anterior en 20/20 neoplasias de hipófisis. En meduloblastomas (MB) de la “variante desmoplásica”, el anticuerpo marcó 8/11 casos. El marcado se presentó como áreas locales de las células marcadas para GFAP con morfología neoplásica. Solo 4/31 MB de la “variante clásica” presentaron este tipo de células neoplásicas, pero en los MB clásicos, se observaron células marcadas para GFAP con la morfología de astrocitos reactivos en 27/31 casos. De igual forma, el anticuerpo marcó 15/38 schwannomas (38%) y 2 casos de neurofibroma plexiforme, mientras que 16 casos de neurofibroma dérmico resultaron no reactivos. En diversos trastornos neoplásicos y no neoplásicos de mama, el porcentaje de células mioepiteliales reactivas con el anticuerpo aumentó en gran medida, en comparación con la mama normal, mientras que no se encontró marcado en las células malignas de 183 carcinomas de distintos tipos. El anticuerpo no marcó los meningiomas en un estudio que incluyó a 36 pacientes.

75. Tejidos normales: En el estómago, las células G del antro pilórico muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción. De forma ocasional, se puede apreciar una reacción difusa a la tinción de las células G. El anticuerpo no marca las células epiteliales.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 12/12 gastrinomas duodenales, 5/5 gastrinomas pancreáticos, 8/8 gastrinomas en ganglios linfáticos peripancreáticos y periduodenales e hígado sin tumor primario conocido. En otro estudio, el anticuerpo marcó 3/11 tumores endocrinos pancreáticos.

76. Tejidos normales: En cortes de colon normal, el anticuerpo marca algunos axones en haces de axones de los plexos de Auerbach y Meissner, mientras que los pericariones de las células ganglionales no se inmunotiñen. Los axones grandes en el plexo de Auerbach muestran una reacción de tinción moderada a fuerte, mientras que los axones aislados en la muscularis externa muestran una reacción de tinción leve a moderada.

Tejidos anómalos: En los gangliogliomas, el anticuerpo marcó los procesos neuronales en 10 de 13 tumores, mientras que en solo 5 de los casos, se observó una tinción significativa en los pericariones neuronales. En un estudio inmunohistoquímico de los filamentos intermedios en el carcinoma de células de Merkel, 2 de 8 casos fueron positivos. Este clon no marca los neuroblastomas.

77. Tejidos normales: El anticuerpo marca la capa basal de la epidermis (marcado de células diseminadas), células de Merkel, glándulas sebáceas, vaina radicular externa de folículos pilosos, espiral secretora y células ductales lumbinales de las glándulas sudoríparas ecrinas,



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matriculada Provincial N° 7.998". The second signature is in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGINOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

epitelio escamoso no queratinizado de la laringe, mesotelio, células epiteliales ciliadas columnares y basales de los bronquios, células del revestimiento alveolar, células basales y cuboidales de la glándula parótida, células basales, acinares y ductales de las glándulas salivales menores, células basales del esófago, células neuroendocrinas y secretoras del estómago, vellosidad y epitelio de la cripta del intestino delgado, epitelio del colon, epitelio acinar y ductal del páncreas, epitelio del conducto biliar, epitelio de vesícula biliar, células columnares de los lóbulos y ductos mamarios, células columnares y de reserva endocervicales, células basales ectocervicales, epitelio glandular endometrial, citotrofoblasto de la placenta, epitelio ductal, células basales y vesículas seminales de la próstata, rete testis, epitelio de la cápsula de Bowman, túbulos distales/proximales y asa de Henle, epitelio transicional de la vejiga, y epitelio folicular de la glándula tiroides. En el hígado, las células epiteliales de los conductos biliares muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción citoplasmática, mientras que las células hepáticas son negativas. En las amígdalas, las células epiteliales escamosas muestran focalmente una reacción de débil a moderada a la tinción citoplasmática, que es más fuerte en la capa basal.

Tejidos anómalos: 4/4 carcinomas de epidermis de células basales y 3/3 carcinomas de células escamosas queratinizados bien diferenciados de epidermis, 1/1 queratoacantoma, 1/3 y 1/2 carcinomas bien diferenciados no queratinizados de células escamosas del labio y de la lengua respectivamente, 1/5 carcinomas de células escamosas de lengua moderadamente diferenciados y 1/1 escasamente diferenciados, 1/1 papiloma y 3/3 papilomas invertidos de nasofaringe, 1/3 carcinomas de células escamosas de laringe bien diferenciados, 3/4 moderadamente diferenciados y 1/1 mal diferenciado, 7/7 carcinomas de células escamosas, 4/4 adenocarcinomas, 1/1 carcinoma adenoescamoso y 5/5 carcinomas pulmonares de células pequeñas de la vía respiratoria, 5/5 adenomas pleomórficos, 3/3 carcinomas mucoepidermoides y 1/1 carcinoma de células acínicas de la glándula parótida, 6/6 carcinomas de células escamosas del esófago, 4/4 adenocarcinomas, 2/2 carcinoideas y 1/1 metástasis en ganglio linfático en el estómago, 1/1 adenocarcinoma de intestino delgado, 1/1 carcinoide de apéndice, 11/11 adenocarcinomas, 2/2 metástasis de ganglios linfáticos y 1/1 carcinoide de colon, 7/7 adenocarcinomas de páncreas, 6/6 carcinomas colangiocelulares, 12/12 carcinomas ductales, 4/4 carcinomas lobulares, 2/2 metástasis de ganglios linfáticos y 4/4 carcinomas combinados ductal/lobular de mama, 2/2 enfermedad de Paget, 11/11 cistadenocarcinomas, 2/2 carcinomas de células claras y 7/7 carcinomas



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

endometrioides de ovario, 1/1 tumor de Brenner maligno, 4/4 carcinomas de células escamosas, 12/12 adenocarcinomas, 8/8 carcinomas de cuello uterino de células adenoescamosas y 2/2 de células claras, 13/13 carcinomas endometrioides y 3/3 carcinomas adenoescamosos de endometrio, 5/5 carcinomas de células escamosas de la vulva bien diferenciados y 1/4 moderadamente diferenciados, 8/8 adenocarcinomas de próstata, 3/3 teratomas malignos, 2/2 coriocarcinomas, 6/6 carcinomas de células renales, 9/9 carcinomas de vejiga urinaria, 8/8 carcinomas de glándula tiroides, 1/1 adenoma cromóforo y 1/1 adenoma acidófilo de la glándula pituitaria, 4/4 astrocitomas, 4/4 meningiomas y 5/13 leiomiosarcomas. En otro estudio, el anticuerpo marcó 5/8 lesiones de mama malignas medulares, 26/28 invasivas ductales, 4/4 invasivas lobulares, 5/5 mucinosas y 2/2 tubulares, así como a 12/14 fibroadenomas, 5/5 tumores Phyllodes, 3/3 adenomas tubulares, 1/1 hamartoma, 3/4 papilomas intraductales, 8/8 ginecomastias y 5/5 cambios fibroquísticos de mama.

78. Tejidos normales: En general, el anticuerpo marca epitelios simples y el epitelio transicional y no componentes epiteliales estratificados, que son negativos. El marcado incluye epitelios simples de intestino, ramificación bronquial y alvéolos del sistema respiratorio, túbulos renales, conductos biliares, mucosa superficial del endometrio y endocervical, epitelio de las trompas de Falopio y red epitelial de testículo y ovario. Además, el anticuerpo marca los hepatocitos y los acinos pancreáticos. También marca los epitelios glandulares complejos mamarios, salivales y de glándulas sudoríparas, así como el epitelio transicional de la vejiga urinaria. Además se marcan las células epiteliales del periodonto. De las células no epiteliales, el anticuerpo marca las células endoteliales en vénulas, sistema linfático y capilares en tejidos tales como piel, tejidos blandos subcutáneos, músculo esquelético, placenta y, por ejemplo, la mucosa de las vías respiratorias, el tubo digestivo y el tracto genital. No se observó marcado en los tejidos epiteliales que carecen de CK18, por ejemplo, epidermis, epidermis de la planta del pie, vagina, exocérvix, esófago y células mioepiteliales. En el hígado, las células epiteliales de los conductos biliales muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción citoplasmática, mientras que las membranas de las células hepáticas muestran una reacción de débil a moderada a la tinción.

Tejidos anómalos: En tumores de páncreas, el anticuerpo marcó 6/6 carcinomas de células acinares, 1/1 pancreatoblastoma, 19/20 tumores neuroendocrinos pancreáticos, y 10/19 tumores sólidos pseudopapilares. Además, el anticuerpo marcó 30/30 sarcomas sinoviales



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

bifásicos, 21/46 monofásicos, y 8/17 mal diferenciados. En tumores vasculares, el anticuerpo marcó células endoteliales en 17/17 hemangioendoteliomas epitelioides, 9/14 angiosarcomas epitelioides, 6/10 hemangiomas de células fusiformes, 2/7 linfangiomas, 10/48 angiosarcomas no epitelioides, 3/13 hemangiomas venosos, y 1/18 hemangiomas capilares. No se observó marcado en 4 hemangiomas cavernosos ni en 6 sarcomas de Kaposi. Las pruebas realizadas con el anticuerpo en seminoma, carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma de células de Merkel y carcinoma de mama invasivo mostraron inmunorreacción.

79. Tejidos normales: El anticuerpo marca sistemáticamente un gran número de epitelios simples, complejos y transicionales, como los conductos biliares y pancreáticos, alvéolos pulmonares, endometrio, túbulos contorneados distales y conductos colectores del riñón (epitelios simples), epitelio bronquial y bronquiolar, conductos de la próstata, células luminales de la trompa de falopio y cuello uterino, glándulas bronquiales, mamas, salivares, sudoríparas y endocervicales, trofoblastos placentarios (epitelios complejos) y todas las capas de células de urotelio (epitelio transicional). Además, el anticuerpo marca el mesotelio ovárico, lo que también se observó en las células luminales y basales de la próstata y en células mioepiteliales. En el páncreas, las células epiteliales de los conductos acinares grandes muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte, mientras que las células epiteliales de los conductos pancreáticos intercalados muestran una reacción de débil a moderada.

Tejidos anómalos: En el ovario humano, el anticuerpo marcó 12/12 tumores quísticos simples, 12/12 cistadenomas y 60/60 carcinomas. Además, marcó 6/6 carcinomas endometriales, 4/4 endocervicales, 3/3 mamaros y 3/3 de tiroides. En el pulmón humano, el anticuerpo marcó 20/20 adenocarcinomas de distintos grados, incluso 4 carcinomas bronquiolaveolares, mientras que no marcó 24/24 casos de carcinomas de células escamosas, al igual que 6/6 casos de carcinomas de células anaplásicas grandes (1) y 10/10 casos de mesoteliomas. En el aparato digestivo humano, el anticuerpo marcó 5/6 adenocarcinomas de distinto grados y 3/3 carcinomas de células en anillo de sello poco diferenciados en el estómago, y 1/1 carcinoma del páncreas, mientras que no marcó los carcinomas anaplásicos de estómago, intestino delgado y recto así como los adenocarcinomas de colon de distintos grados. El anticuerpo marcó 6/6 carcinomas renales de células cromóforas mientras que no marcó 8/11 oncocitomas.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

80. Tejidos normales: En el mesotelio normal y reactivo, el anticuerpo marcó 0/40 casos, y en 27 mesoteliomas, las células normales, como por ejemplo los fibroblastos y células endoteliales, fueron negativas. En el colon, solo las células epiteliales basales benignas diseminadas muestran una reacción de débil a moderada a la tinción nuclear.

Tejidos anormales: En el linfoma folicular se observó una creciente acumulación de p53 en centroblastos con una progresión morfológica que derivó en resultados positivos en 1/16 casos de grado I, 10/21 casos de grado II y 6/6 casos de grado III. En los mesoteliomas, el anticuerpo marcó 7/26 casos de tipo epitelial (1 a 25% de células marcadas), 1/7 casos de tipo mixto (25 a 50% de células marcadas) y 1/3 casos de tipo mesenquimal (más del 75% de células marcadas). Las células neoplásicas en adenocarcinoma de colon muestran una reacción a la tinción nuclear de moderada a fuerte.

81. Tejidos normales: El anticuerpo marca el colon normal. Las células epiteliales de la mucosa colónica muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción en la superficie luminal y el glucocálix. En las amígdalas, las células epiteliales escamosas muestran focalmente una reacción de débil a moderada a la tinción citoplasmática.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 6/6 carcinomas de colon, 2/2 carcinomas de vesícula biliar y 2/3 carcinomas de la ampolla de Vater. Además, el anticuerpo marcó 31/31 meningiomas secretores. Las pruebas realizadas con el anticuerpo sobre carcinomas medulares de tiroides presentaron inmunoreacción. El anticuerpo marcó 9/11 casos de adenocarcinoma pulmonar residual. No se observó reactividad en nueve mesoteliomas.

82. Tejidos normales: en el hígado el anticuerpo marca los hepatocitos. No parece haber ninguna preferencia de zona en el hígado normal, pero en los sitios inmediatamente adyacentes a los tumores puede observarse una disminución del marcado en hepatocitos comprimidos. No se observa marcado de conductos biliares o células no parenquimatosas. No se marcan casi todos los tumores de piel, músculo liso y esquelético, mesotelio, ganglios linfáticos, bazo, pulmón, mama, esófago, estómago, intestino, páncreas, vías biliares, riñón, vejiga urinaria, glándula suprarrenal, próstata, endometrio y ovario. Las raras excepciones son un marcado focal, pero muchas veces fuerte, de la mucosa del intestino delgado en una minoría de casos. Los hepatocitos presentan una reacción de moderada a fuerte a la tinción. Tejidos anómalos: de los carcinomas hepatocelulares primarios (HCC), 37/38 fueron marcados por el anticuerpo. De los HCC marcados, 4 solo mostraron raramente células marcadas. El caso no marcado fue un HCC esclerosante. Se observó una variación



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

considerable de un área a otra en los HCC marcados. De las metástasis de HCC, 4/5 se marcaron. En otro estudio que comprendió 65 tumores hepáticos y 2 tumores extrahepáticos de pacientes con tumores hepáticos comprobados, el anticuerpo mostró una sensibilidad del 82% y una especificidad del 90% para la clasificación de neoplasias hepatocelulares. El anticuerpo marcó 12/12 hepatoblastomas, mientras que no se marcaron 26/26 tumores pediátricos seleccionados, entre ellos 5 tumores de células germinales, 4 tumores neuroectodérmicos periféricos/sarcomas de Ewing, 3 rabdosarcomas, 5 neuroblastomas, 2 tumores rabdoideos, 3 linfomas y 4 tumores de Wilms. Se observó marcado focal para el anticuerpo en 6/7 adenocarcinomas hepatoides del tubo digestivo. Estos tumores infrecuentes también expresaron la fetoproteína alfa-1 y CEA.

83. Tejidos normales: Las células del cuello mucoso y las células de la cripta profunda del intestino delgado y del colon, así como las células centrogerminales de las placas de Payer, son positivas con el anticuerpo. Las células del epitelio superficial y otras células mucosas, por ejemplo las células de Paneth y las células del tejido conectivo submucoso, son negativas. Las células musculares también son negativas, con la excepción de unas pocas células positivas en los músculos lisos. El riñón, el hígado, el páncreas y el cerebro son negativos. En la amígdala, las células B del centro germinal de la zona oscura muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte, mientras que las células basales y parabasales del epitelio escamoso muestran una reacción a la tinción de débil a moderada.

Tejidos anormales: En un estudio de 322 carcinomas de mama invasivos ductales, se observó una tinción membranosa o citoplasmática. El anticuerpo marcó 24/24 carcinomas de próstata.

84. Tejidos normales: En la amígdala, las células epiteliales escamosas muestran una tinción citoplasmática de moderada a fuerte y las células plasmáticas muestran una tinción de débil a moderada.

Reactividad en tejido normal



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos
Amígdala (3)	3/3 células epiteliales escamosas (>75% - >90%) 3/3 células con morfología de células plasmáticas	Médula ósea (3)	2/3 células con morfología de células plasmáticas
Bazo (3)	2/3 células con morfología de células plasmáticas	Músculo esquelético (3)	0/3
Células de revestimiento (pared torácica, pared abdominal, pericardio, superficie de muestras gastrointestinales, corazón y/o pulmón) (3)	0/3	Nervio periférico (3)	3/3 perineurio
Colon (3)	3/3 células epiteliales (>95%)	Ovario (3)	3/3 células epiteliales (<1% - >90%)
Corazón (3)	0/3	Páncreas (3)	3/3 células epiteliales (>95%)
Cuello uterino (3)	3/3 células epiteliales de glándulas y superficie (>95%)	Paratiroides (3)	0/3
Encéfalo, cerebelo (3)	0/3	Piel (3)	3/3 epitelio de apéndices (>75%) 3/3 epitelio superficial (<50%)
Encéfalo, cerebro (3)	1/3 células endoteliales (20%)	Próstata (3)	3/3 células epiteliales (<5% - >50%)
Esófago (3)	3/3 células epiteliales de superficie (>40%, 75%, >75%) 1/3 epitelio ductal y glandular (50%) 1/3 células epiteliales glandulares (>90%)	Pulmón (3)	3/3 células epiteliales (>95%)
Estómago (3)	3/3 células epiteliales de superficie (>95%) 2/3 vasos pequeños	Riñón (3)	3/3 células epiteliales tubulares (>95%)
Glándula salivar (3)	3/3 conductos y células epiteliales glandulares (>50% - >75%)	Suprarrenal (3)	3/3 células endoteliales (<5%)
Hígado (3)	1/3 conductos biliares (>75%)	Testículo (3)	1/3 red testicular (>95%)
Hipófisis (3)	0/3	Timo (3)	3/3 corpúsculo de Hassall (>90%)
Intestino delgado (3)	3/3 células epiteliales (<5% - <25%)	Tiroides (3)	3/3 células epiteliales (<5%)
Mama (3)	3/3 células epiteliales ductales y lobulares (>50% - >90%)	Útero (3)	3/3 glándula endometrial (>75% - >95%)

Tejidos anómalos: Los adenocarcinomas de riñón, mama, colon, estómago, páncreas, pulmón, endometrio y ovario todos resultaron marcados con el uso inmunocitoquímico del anti-EMA E29. Los patrones de tinción fueron principalmente citoplasmáticos, pero también se observó reactividad apical y tinción luminal intracelular y membranosa periférica. También resultaron marcados por el anticuerpo los carcinomas anaplásicos de células escamosas, transicionales y pequeñas, y los mesoteliomas. El anticuerpo también mostró reactividad con tumores somáticos, carcinomas de células renales, meningiomas, cordoma clásico y carcinoma neuroendocrino (célula de Merkel). Los tumores y neoplasias sin reactividad al anti-EMA, E29 son: carcinoma de células basales, seminomas, carcinomas embrionarios, schwannomas, leiomiomas de vejiga, leiomiomas epitelioides de la piel y los tejidos subcutáneos, hemangioblastomas capilares, tumores de células granulosas ováricas y neoplasias angiosarcomatosas tiroideas.

85. Tejidos normales: El anticuerpo marca todos los tejidos epiteliales normales. Las células


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

epiteliales de distinto origen muestran diversos niveles de tinción, pero la mayor parte de los epitelios son fuertemente positivos. Solo las células parietales de las glándulas gástricas, las capas celulares apicales de los epitelios escamosos y los hepatocitos adultos son negativos. El anticuerpo no marca los tejidos no epiteliales, tales como bazo, sangre periférica, médula ósea, cerebro, tejido conjuntivo, músculo liso y estriado, corazón, endotelios y mioepitelios. Además, las células de revestimiento del peritoneo y la pleura son negativas, mientras que las células que recubren los ovarios muestran una ligera tinción. En el colon, las células epiteliales de la columna muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En el riñón, las células epiteliales que recubren la cápsula de Bowman muestran una reacción de tinción de débil a moderada.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 142 de 144 muestras de tumores epiteliales, independientemente de su diferenciación, derivadas de mamas, esófago, estómago, colon, recto, páncreas, riñón, hígado, pulmón, tiroides y glándulas salivales, vagina, ovario, cuello uterino y nasofaringe, lo que refleja el patrón de tinción en sus homólogos no malignos. Los carcinomas hepatocelulares mostraron una tinción heterogénea e incluyeron los dos casos no marcados. En este estudio, 2 de 2 carcinomas de células escamosas de pulmón y de cuello uterino, respectivamente, se marcaron en muestras fijadas con formol e incluidas en parafina, aunque en los tejidos normales solo se marcaron las capas de células basales. En algunos carcinomas, como los carcinomas gástricos, el anticuerpo mostró un marcado más fuerte que en los tejidos normales, en especial en la membrana. El anticuerpo no marcó ninguno de los 88 tumores no epiteliales ni de los 20 casos de leucemia. En un estudio de 83 adenocarcinomas y 115 mesoteliomas malignos, el anticuerpo marcó 72/83 adenocarcinomas, mientras que solo se marcó 1/115 mesoteliomas malignos. En otro estudio, se marcaron 20/20 adenocarcinomas pulmonares y 4/46 mesoteliomas. De los 4 mesoteliomas marcados, 2 mostraron un marcado estrictamente focal. En los ganglios linfáticos clasificados como libres de tumor mediante una técnica histopatológica convencional, el anticuerpo marcó células tumorales micrometastásicas en 89 de 126 pacientes con carcinomas esofágicos completamente extirpados. En un estudio de 75 tumores de piel, el anticuerpo marcó 39/39 carcinomas de células basales, 0/23 carcinomas de células escamosas y mostró ciertas áreas de tinción en 13/13 carcinomas basoescamosos.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

86. Tejidos normales: En el tejido vascular, las células endoteliales muestran una tinción nuclear de moderada a fuerte y el tejido linfoide muestra una tinción nuclear de débil a fuerte. Resumen de Monoclonal Rabbit Anti-Human ERG. Clon EP111, reactividad en tejido normal

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos y % de tinción celular*	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos
Suprarrenal (3)	3/3 células endoteliales	Ovario (4)	4/4 células endoteliales
Médula ósea (4)	4/4 células mielomonocíticas/linfocíticas (subtipo desconocido) 70-80%	Páncreas (3)	3/3 células endoteliales
Mama (3)	3/3 células endoteliales	Paratiroides (3)	3/3 células endoteliales
Cerebelo (3)	3/3 células endoteliales	Hipófisis (3)	3/3 células endoteliales 2/3 células fusiformes (subtipo desconocido)
Cerebro (3)	3/3 células endoteliales	Próstata (3)	3/3 células endoteliales 3/3 fibroblastos (<10%)
Cuello uterino (5)	5/5 células endoteliales 4/5 linfocitos (pocos)	Glándula salivar (3)	3/3 células endoteliales
Colon (3)	3/3 células endoteliales 1/3 linfocitos (aprox. 25%)	Piel (3)	3/3 células endoteliales
Esófago (3)	3/3 células endoteliales	Intestino delgado (3)	3/3 células endoteliales 2/3 linfocitos (25->50%)
Riñón (3)	3/3 células endoteliales	Bazo (3)	3/3 células endoteliales
Hígado (3)	3/3 células endoteliales 1/3 células de Kupfer	Estómago (3)	3/3 células endoteliales 1/3 linfocitos (<50%)
Pulmón (3)	3/3 células endoteliales	Testículo (3)	3/3 células endoteliales
Células mesoteliales (5)	5/5 células endoteliales	Timo (3)	3/3 células endoteliales 2/3 linfocitos (<10%)
Músculo, cardíaco (3)	3/3 células endoteliales	Tiroides (4)	4/4 células endoteliales 2/4 linfocitos (pocos)
Músculo, esquelético (3)	3/3 células endoteliales	Amígdala (3)	3/3 células endoteliales 3/3 linfocitos (<25%)
Nervio, periférico (3)	3/3 células endoteliales	Útero (3)	3/3 células endoteliales

*No se puede evaluar el porcentaje de células endoteliales porque no se ha presentado un marcador vascular.

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó: Adenocarcinoma de próstata 10/28 (35.7%), neoplasia intraepitelial prostática 1/3 (33.3%), carcinoma endometriode ovárico 1/1 (100%), GIST 1/1 (100%), linfoma de Hodgkin 2/2 (100%), linfoma de células B, B-CLL 1/1 (100%), linfoma de células del manto 1/1 (100%), linfoma de células 1/1 (100%), DLBCL 2/2 (100%), linfoma anaplásico de células T 1/1 (100%). Otros estudios han demostrado que la expresión de la proteína ERG en 51/83 (61%) adenocarcinomas de próstata en biopsias con aguja y 62/128 (48,4%) adenocarcinomas de próstata en TMA.

87. Tejidos normales: En el colon/apéndice, los nervios periféricos de la lámina muscular muestran una tinción citoplasmática de moderada a fuerte y las células endocrinas de la superficie epitelial muestran una tinción citoplasmática de débil a moderada. En ocasiones,



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

se puede observar el marcado citoplasmático de células caliciformes en el colon y el intestino delgado.

Reactividad en tejido normal:

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares marcados
Amígdala (3)	0/3	Médula ósea (3)	0/3
Bazo (3)	0/3	Músculo esquelético (3)	0/3
Células de revestimiento (pared torácica, pared abdominal, pericardio, superficie de muestras gastrointestinales, corazón y/o pulmón) (3)	3/3 células en el estroma	Nervio periférico (3)	3/3 células ganglionares y fibras de nervios (>25% - >50%)
Colon (3)	3/3 células en el estroma 3/3 nervios periféricos de la capa muscular (>90%) 3/3 células en el epitelio superficial (<10%)	Ovario (3)	3/3 células en el estroma
Corazón (3)	3/3 células en el estroma	Páncreas (3)	3/3 células insulares y ganglionares (100%)
Cuello uterino (3)	3/3 células en el estroma	Paratiroides (3)	3/3 células en el estroma 1/3 células de origen desconocido en el borde de la paratiroides
Encéfalo, cerebelo (3)	3/3 células neuronales (100%)	Piel (3)	2/3 células principalmente alrededor de las glándulas (>50%) 3/3 células en el estroma
Encéfalo, cerebro (3)	3/3 células neuronales (100%)	Próstata (3)	3/3 células en el estroma 3/3 nervios periféricos
Esófago (3)	3/3 células en el estroma	Pulmón (3)	3/3 células en el estroma
Estómago (3)	3/3 células basales (>75%) 3/3 células en el estroma	Riñón (3)	3/3 células en el estroma 2/3 nervios periféricos
Glándula salivar (3)	3/3 células en el estroma	Suprarrenal (3)	3/3 células suprarrenales (>75%)
Hígado (3)	0/3	Testículo (3)	3/3 células en el estroma
Hipófisis (3)	3/3 células hipofisarias (100%)	Timo (3)	0/3
Intestino delgado (3)	3/3 células basales (>75%) 3/3 células en el estroma 3/3 nervios periféricos de la capa muscular (>90%)	Tiroides (3)	3/3 células en el estroma
Mama (3)	0/3	Útero (3)	3/3 células en el estroma

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 4/4 carcinomas de pulmón de células pequeñas, 2/6 carcinomas de pulmón de células grandes, 2/2 carcinoides atípicos de pulmón, 3/3 carcinoides de colon, 5/5 carcinoides de intestino delgado, 1/1 neoplasia neuroendocrina de páncreas, 1/1 ganglioneuroma, 3/3 carcinomas medulares de tiroides, 2/3 adenocarcinomas de pulmón, 1/2 adenocarcinoma de pulmón no diferenciado, 2/4 adenocarcinomas de colon, 1/4 adenocarcinomas de intestino delgado, 1/2 adenocarcinoma de páncreas y 0/3 carcinomas papilares de tiroides.

88. Tejidos normales: En la amígdala, las células epiteliales escamosas deben mostrar una tinción nuclear de moderada a fuerte y las células endoteliales deben mostrar una tinción de débil a moderada.

Reactividad en tejido normal.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos	Tipo de tejido (n.º analizado)	Elementos tisulares positivos
Amígdala (3)	3/3 células epiteliales escamosas (>75%)	Médula ósea (3)	0/3
Bazo (3)	0/3	Músculo esquelético (3)	0/3
Células de revestimiento (pared torácica, pared abdominal, pericardio, superficie de muestras gastrointestinales, corazón y/o pulmón) (3)	0/3	Nervio periférico (3)	0/3
Colon (3)	0/3	Ovario (3)	0/3
Corazón (3)	0/3	Páncreas (3)	0/3
Cuello uterino (3)	1/3 células epiteliales glandulares (<10%) 1/3 células epiteliales glandulares (células basales principalmente) (<10%) 1/3 células epiteliales glandulares incluidas células basales (20%) 2/3 células epiteliales de superficie (epitelio de células escamosas) (>90%)	Paratiroides (3)	0/3
Encéfalo, cerebelo (3)	0/3	Piel (3)	3/3 células epiteliales de superficie (epitelio de células escamosas) (>90%) 3/3 células basales/mioepiteliales (>90%)
Encéfalo, cerebro (3)	0/3	Próstata (3)	3/3 células basales/mioepiteliales (>90%)
Esófago (3)	3/3 células epiteliales de superficie (>50% - >60%) 1/3 células basales/mioepiteliales en glándulas (>90%)	Pulmón (3)	3/3 células basales en los bronquios y bronquiolos (>90%)
Estómago (3)	1/3 células epiteliales en el epitelio superficial (50%)	Riñón (3)	0/3
Glándula salivar (3)	3/3 células basales/mioepiteliales (>75%)	Suprarrenal (3)	1/3 células de la glándula suprarrenal (<10%)
Hígado (3)	0/3	Testículo (3)	3/3 espermatozoides (<5%) 2/3 células de Leydig probablemente (<5%)
Hipófisis (3)	0/3	Timo (3)	3/3 células epiteliales
Intestino delgado (3)	0/3	Tiroides (3)	1/3 células epiteliales de tiroides (<5%)
Mama (3)	3/3 células basales/mioepiteliales (>90%)	Útero (3)	1/3 células estromales endometriales (<5%) 1/3 células glandulares endometriales (<5%)

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó células basales en 10/10 hiperplasias de la próstata y células mioepiteliales en 5/5 carcinomas de mama in situ. El anticuerpo marcó 6/6 carcinomas de células escamosas de pulmón, 6/6 carcinomas de células escamosas de cuello uterino, 0/10 carcinomas de próstata, 3/6 carcinomas de mama, 4/6 adenocarcinomas de cuello uterino, 4/6 adenocarcinomas de pulmón.

89. Tejidos normales: En las trompas de Falopio, el borde en cepillo apical de las células epiteliales muestra una tinción de moderada a fuerte a la tinción. Las células epiteliales diseminadas también muestran una reacción citoplasmática. El anticuerpo también marca las células dendríticas foliculares y el epitelio glandular de la próstata.


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tejidos anómalos: El anticuerpo marcó 18/25 carcinomas de ovario serosos y 4/20 carcinomas de ovario mucinosos. En otro estudio, el anticuerpo marcó 22/22 carcinomas de ovario serosos, 5/10 carcinomas de ovario mucinosos, 6/7 carcinomas de ovario endometrioides y 10/10 carcinomas de ovario. Además, se halló que CA 125 fue expresado por 19/20 (95%) carcinomas serosos papilares de ovario, 2/3 (67%) carcinomas papilares serosos del peritoneo y 8/32 (25%) mesoteliomas peritoneales difusos.

90. Tejidos normales: El anticuerpo marca el urotelio normal (1, 4) y el epitelio maduro que recubre la vellosidad de la mucosa duodenal. La inmunorreactividad a CK 20 no se ha detectado en varios tejidos no epiteliales analizados, como músculo liso, pared de los vasos sanguíneos, ganglios linfáticos y estroma tumoral. En células epiteliales columnares del colon, las células luminales muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte, mientras que las células basales-intermedias tienen una reacción de débil a moderada.

Tejidos anormales: En el adenocarcinoma colónico, el anticuerpo marcó 26 de 27 tumores (96%). Veintiuno (78%) mostraron tinción en más del 50% de las células. El anticuerpo marcó células uroteliales superficiales (marcado normal en 10 de 51 pacientes con papiloma urotelial de vejiga. A diferencia de ello, 30 pacientes (73%) mostraron expresión de CK 20 en todas las capas celulares (marcado anormal). El anticuerpo marcó 3 de 4 tumores gástricos metastásicos.

Se observó inmunotinción focal con el anticuerpo (menos de 10% de células marcadas) en 9 de 65 tumores de pulmón, 1 de 20 de mama y 2 de 11 de endometrio. De 19 carcinomas renales de células claras, uno mostró marcado en el 10-50% de las células. Ninguno de 10 carcinomas de ovario primarios y ninguno de 5 mesoteliomas se marcaron para el anticuerpo.

91. Tejidos normales: El anticuerpo marca los epitelios escamosos estratificados. En los epitelios complejos, las células basales expresan la CK 5 en la mayor parte de los casos. Por lo general, el anticuerpo no marca los epitelios simples ni las células no epiteliales. En la amígdala, las células epiteliales escamosas basales muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En la próstata, las células basales muestran una reacción a la tinción de débil a moderada, mientras que en las células secretoras solo se observa reacción focal o nula.

Tejidos anormales: La CK 5/6 se expresó en los 10 casos de carcinoma de células escamosas fusiformes. En cambio, solo se observó tinción de CK 5/6 en células raras tumorales en 1/24 (4%) casos de sarcoma epitelioide. En otro estudio, el anticuerpo marcó



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

fuertemente 23 de 23 mesoteliomas con diferenciación acinar o epiteliode, mientras que en las áreas sarcomatoides de tumores con una morfología mixta el marcado fue débil o nulo. Un caso de mesotelioma sarcomatoide produjo una reacción equívoca, mientras que los mesoteliomas de tipo desmoplásico o sarcomatoide no se marcaron. De 27 adenocarcinomas secundarios de pleura, 22 no se marcaron, 4 fueron débiles o equívocos y 1 se marcó focalmente. Con el anticuerpo, se han demostrado altos niveles de marcado de la citoqueratina 5/6 en hiperplasia ductal de tipo usual. Sin embargo no se observó marcado en la mayoría de los casos de hiperplasia ductal atípica y carcinoma ductal in situ. En tejidos en parafina y fijados en formol, el anticuerpo marcó 56/61 (92%) de los mesoteliomas pleurales epitelioides, mientras que se marcaron 9/63 (14%) de los adenocarcinomas metastásicos. También se marcó el mesotelio reactivo.

92.Cancer de mama

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica de la mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH se investigó utilizando 18 muestras de epitelio normal de mama humano. La proporción entre el número de señales de HER2 y de señales de CEN-17 se calculó basándose en un recuento de 20 núcleos por muestra.

La proporción de HER2/CEN-17 de las 18 muestras de epitelio normal de mama humano fue 0,97–1,08.

Especificidad analítica

Las sondas de ADN HER2 contenidas en la mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH se han secuenciado y mapeado, confirmando una cobertura total de 218 kb incluido el gen HER2. Las sondas de ANP CEN-17 contenidas en la mezcla de sondas HER2/CEN-17 IQISH se han testado individualmente y combinadas, confirmando su hibridación específica con la región centromérica del cromosoma 17.

Para medir la capacidad del ensayo para identificar de forma exclusiva las sustancias diana HER2 y CEN-17 sin interferencia de otras sustancias, se realizaron estudios en muestras de tejido de epitelio normal de mama humano usando el Vial 3 que contenía el tampón de hibridación pero no la mezcla de sondas. Se evaluaron un total de 18 muestras en busca de la presencia de señales no relacionadas con la mezcla de sondas. No se observó detección de otras dianas cromosómicas ni interferencia con sustancias estrechamente relacionadas en ninguno de las 18 muestras.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Estudios de robustez

La robustez del ensayo HER2 IQFISH pharmDx se evaluó variando el tiempo y la temperatura de pretratamiento y los métodos de calentamiento del tampón de pretratamiento (horno microondas o baño de agua), el tiempo y el método de incubación con pepsina (pepsina RTU o inmersión), la temperatura y el tiempo de desnaturalización, el tiempo de hibridación, y el tiempo y la temperatura del lavado astringente.

No se observó ninguna diferencia significativa en los resultados bajo las siguientes condiciones experimentales:

PD04090ES_02/K573111-2 p. 22/68

- Método de pretratamiento A) Baño de agua durante 10 minutos combinado con cada una de las siguientes temperaturas: 95 °C, 95–99 °C, y 99 °C junto a 9, 10 y 11 minutos a 95–99 °C
- Método de pretratamiento B) Horno microondas durante 9, 10 y 11 minutos a temperaturas de >95 °C.
- Método de digestión con pepsina A) con tiempos de incubación de 5, 10 y 15 minutos temperatura ambiente (20–25 °C).
- Método de digestión con pepsina B) con tiempos de incubación de 3, 4 y 5 minutos a 37 °C.
- Método de digestión con pepsina C) con tiempos de incubación de 20, 25 y 30 minutos combinados con cada una de las siguientes temperaturas: 35, 37 y 39 °C.
- Desnaturalización durante 10 minutos combinado con cada una de las siguientes temperaturas: 65, 66 y 67 °C junto a 9, 10 y 11 minutos a 66 °C. Tiempo de hibridación de 60, 90 y 120 minutos a 45 °C.
- Lavado astringente durante 10 minutos combinado con cada una de las siguientes temperaturas: 61, 63 y 65 °C junto a 9, 10 y 11 minutos a 63 °C.

Nota: Para las pruebas de robustez sólo se cambió un parámetro del procedimiento de tinción a la vez, mientras que el resto de parámetros se mantuvieron constantes. Se recomienda respetar el tiempo y las temperaturas indicadas en el procedimiento de tinción.

La hibridación durante 60 minutos produjo una señal de alta intensidad, si bien ligeramente reducida en comparación a la hibridación de 90 y 120 minutos. No se observó una diferencia significativa en los resultados observados con otras combinaciones de tiempo/temperatura.

El procedimiento de tinción de HER2 IQFISH pharmDx ofrece variables de protocolo para el pretratamiento de calor, la digestión con pepsina y el tiempo de hibridación. Cada



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

combinación única se ha validado respecto al estado del gen HER2. La validación se realizó en 10 muestras FFPE de carcinoma de mama humano con cada una de las 12 posibles combinaciones. Se utilizó el kit HER2 FISH pharmDx (K5331) como referencia. La proporción HER2/CEN-17 de cada muestra individual se muestra en la Figura 1. La tabulación cruzada entre las 12 pruebas y la tinción de referencia mostró una coincidencia general en el estado del gen HER2 del 100% (10/10) con límites de confianza inferior de dos colas inferior y superior en el 78,3% y el 100%, respectivamente. El valor Kappa fue de 1,00 y la prueba de McNemars mostró la ausencia de sesgo (valor p de dos colas de 1,00).

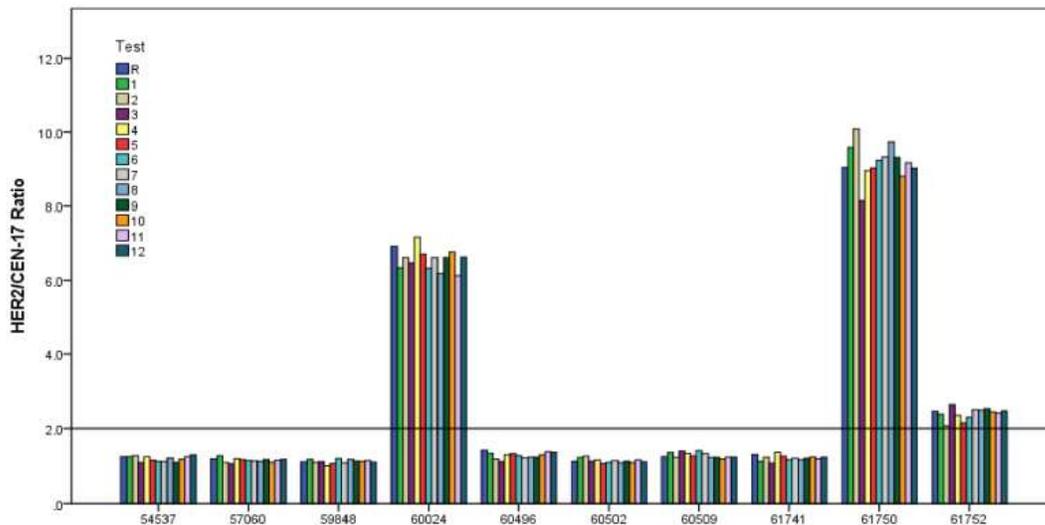


Figura 1. Proporciones *HER2/CEN-17* para 10 muestras de carcinoma de mama humano teñidas usando las 12 posibles combinaciones de protocolo con *HER2 IQFISH pharmDx* (nº de catálogo K5731) (Prueba 1-12) y la referencia (R) del kit *HER2 FISH pharmDx* (nº de catálogo K5331). La línea horizontal ilustra el punto de corte de 2,0.

Repetibilidad

La repetibilidad (capacidad de ser repetida) de la proporción HER2/CEN-17 se investigó con el ensayo HER2 IQFISH pharmDx utilizando cortes consecutivos de muestras de carcinoma de mama humano mamario, con el estado del gen HER2 no amplificado o amplificado. Se analizaron cortes por triplicado de cada muestra en el mismo procedimiento. El coeficiente de variación promedio fue del 5,2% para muestras no amplificadas (intervalo desde el 1% al 8%) y del 14% para muestras amplificadas (intervalo desde el 7% al 20%).

Se analizaron un total de cinco cortes consecutivos de cuatro muestras de carcinoma de mama humano de diferentes grosores (3, 4, 5, 6 y 7 μ m) con HER2 IQFISH pharmDx. El coeficiente de variación promedio de la proporción HER2/CEN-17 fue del 7% (intervalo desde el 6% al 9%).

Bioq. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Reproducibilidad

Se probó el ensayo HER2 IQFISH pharmDx en lo referente a reproducibilidad lote a lote y observador a observador usando tres lotes de HER2 IQFISH pharmDx y tres observadores. La reproducibilidad se analizó en nueve muestras de carcinoma de mama humano diferentes con los estados del gen HER2 no amplificado y amplificado.

El coeficiente de variación promedio de la reproducibilidad lote a lote fue del 5% para muestras no amplificadas (intervalo desde el 2% al 8%) y del 7,8% para muestras amplificadas (intervalo desde el 5% al 11%).

El coeficiente de variación promedio de la reproducibilidad observador a observador fue del 3,2% para muestras no amplificadas (intervalo desde el 0,2% al 6%) y del 2,8% para muestras amplificadas (intervalo desde el 2% al 4%).

Utilidad clínica

La utilidad clínica del kit Dako HER2 FISH pharmDx (nº de catálogo K5331) se investigó en un estudio comparativo con el kit Vysis PathVysion™ HER-2 DNA Probe. El estudio incluyó 150 muestras archivadas de pacientes aquejadas de cáncer de mama de grado II-III, con nodos positivos o negativos.

El objetivo principal del estudio fue investigar el grado de concordancia entre las proporciones HER2/centrómero de cromosoma 17 de 150 muestras ensayadas con los kits Dako y Vysis, en lo relativo a la concordancia general de las proporciones y la concordancia de los resultados de FISH dicotomizados (grupos +/-).

Se hibridaron y puntuaron correctamente un total de 145 muestras, que por lo tanto eran elegibles para el análisis estadístico. En la Tabla 1 se muestra una tabulación cruzada 2 x 2 de los resultados.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 1. Resultados dicotomizados de 145 muestras de cáncer de mama ensayadas con el kit Dako *HER2* FISH pharmDx y con el kit Vysis PathVysion™ *HER-2* DNA Probe. Se puntuaron 60 núcleos en cada muestra con cada uno de los dos kits.

	Kit Dako amplificación (-)	Kit Dako amplificación (+)	Suma
Kit Vysis amplificación (-)	95	2	97
Kit Vysis amplificación (+)	5	43	48
Suma	100	45	145

La concordancia entre los ensayos Dako y Vysis fue del 95%, con un intervalo de confianza del 92–99%. El valor kappa fue 0,89.

El test de McNemar para el análisis del sesgo (error) sistemático entre ambos ensayos no fue significativo ($p=0,22$).

La concordancia general entre los ensayos Dako *HER2* FISH pharmDx y Vysis PathVysion™ *HER-2* DNA Probe se investigó utilizando el análisis de la diferencia entre las observaciones pareadas del logaritmo (proporción), y un análisis de la regresión lineal del logaritmo (proporción) de ambos ensayos. Se llegó a la conclusión de que la diferencia entre las observaciones pareadas del logaritmo (proporción) es sistemáticamente creciente según la suma de las proporciones *HER2*/centrómero de cromosoma 17, y que a proporciones altas, la proporción medida es mayor en el ensayo Dako que en el ensayo Vysis.

La mayor proporción *HER2*/centrómero de cromosoma 17 observada con el kit Dako *HER2* FISH pharmDx puede estar relacionada con una verdadera diferencia entre ambos ensayos, a saber, que una mayor resolución del kit Dako *HER2* FISH pharmDx Kit conduce a proporciones más altas en los casos con alta amplificación del gen *HER2*. No obstante, la evaluación de los kits se llevó a cabo en 2 centros diferentes y por lo tanto es esperable una variación interlaboratorios. Además, se ha descrito en la literatura una mayor variación en los casos de alta amplificación, que no se considera clínicamente relevante (18). El estudio actual no permite investigar si existe una diferencia sistemática entre ambos ensayos si la investigación se realiza entre varios laboratorios. Cabe añadir que la variación observada



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

entre ambos ensayos es de una magnitud similar a la de la variación entre centros observada en el estudio de portabilidad.

Dako *HER2* IQFISH pharmDx (nº de catálogo K5731) se ha comparado con el kit Dako *HER2* FISH pharmDx (nº de catálogo K5331) en un estudio comparable de 78 muestras de tejido mamario de carcinoma humano de mama. La tabulación cruzada del estado de *HER2* obtenida por los dos ensayos arrojaron una coincidencia general del 98,7% con los límites inferior y superior del intervalo de confianza del 95% en 94,2% y 99,9%. El valor kappa fue 0,96, siendo los límites inferiores y superiores del intervalo de confianza del 95% 0,89 y 1,00. El valor p de la prueba de McNemars fue 1,00, indicando la ausencia de sesgo entre los dos ensayos.

Gastrico

Antecedentes

La seguridad y eficacia de trastuzumab (Herceptin™) se ha demostrado en un estudio clínico (el ToGA Trial) (25). El estudio fue diseñado como un estudio multicéntrico de fase III, abierto, aleatorizado realizado en pacientes con *HER2* positivo con adenocarcinoma inoperable localmente avanzado, recurrente y/o metastásico de estómago o de la unión gastroesofágica. La positividad para *HER2* en el ToGA Trial se definió según si era positiva con IHC (3+) (HercepTest™ de Dako) y/o positiva con *HER2* FISH ($HER2/CEN-17 \geq 2,0$) (kit *HER2* FISH pharmDx de Dako nº de catálogo K5331)). Después de la inclusión en el estudio, los pacientes fueron aleatorizados para que recibieran quimioterapia (5-FU o capecitabina y cisplatino) o quimioterapia más trastuzumab. El criterio de valoración principal del estudio fue la supervivencia global (SG).

En el estudio se aleatorizaron 594 pacientes y 584 recibieron la medicación objeto del estudio y fueron incluidos en el conjunto de análisis completo (FAS). Para el criterio de valoración principal la combinación de quimioterapia más trastuzumab mostró ser superior estadísticamente que la quimioterapia sola. La mediana de la SG aumentó de 11,1 a 13,8 meses ($p=0,0046$) con un índice de riesgo de 0,74 (IC 95%: 0,60–0,91). Las curvas de Kaplan-Meier para la SG se muestran en la figura 3.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

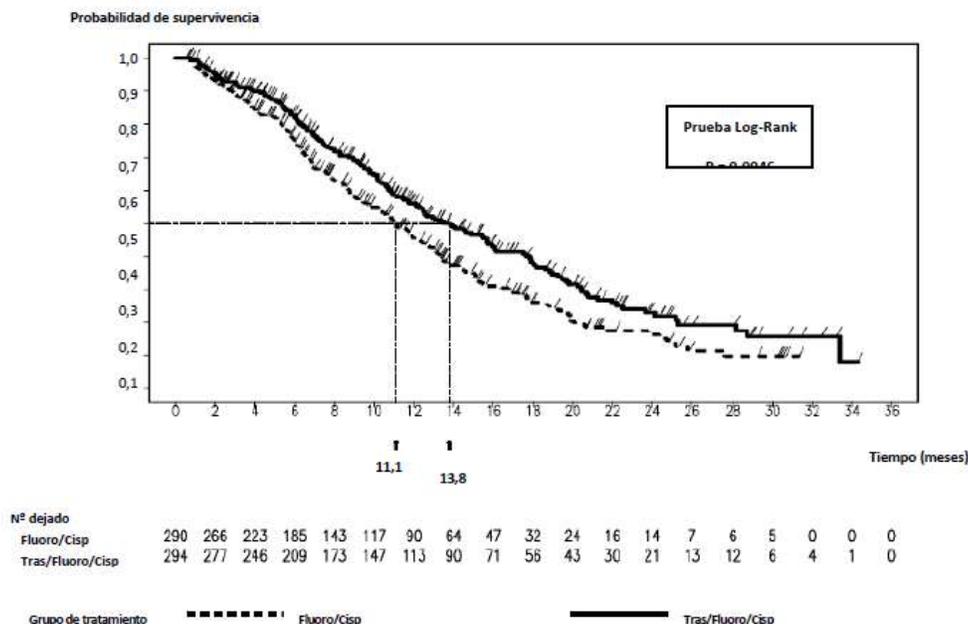


Figura 3. Curva de SG de Kaplan-Meier (n=584).

Se realizaron análisis de subgrupo exploratorio con HER2 preespecificados una vez disponibles los datos, y además se definieron dos nuevos subgrupos de HER2 con posterioridad, basándose en la puntuación de IHC:

Grupo 1 ("grupo de baja expresión de HER2"):

IHC 0/FISH+ e IHC 1+/FISH+ (n = 131)

Grupo 2 ("grupo de alta expresión de HER2"):

IHC 2+/FISH+ e IHC 3+ (FISH+ o FISH- o FISH sin resultado (n=446)

Cuando se repitió el análisis principal de la SG con posterioridad para el "grupo de alta expresión de HER2" (n = 446) el beneficio a favor del tratamiento combinado fue incluso mayor. La mediana de la SG del grupo de pacientes que habían recibido quimioterapia más trastuzumab aumentó a 16,0 meses en comparación con 11,8 meses de los pacientes que solamente recibieron quimioterapia. El índice de riesgo de este análisis disminuyó a 0,65 (IC 95%: 0,51–0,83). Las curvas de SG de Kaplan-Meier para el "grupo de alta expresión de HER2" se muestran en la figura 4.

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial Nº 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Las sondas de ADN *HER2* contenidas en la mezcla de sondas *HER2/CEN-17* IQISH se han secuenciado y mapeado, confirmando una cobertura total de 218 kb incluido el gen *HER2*. Las sondas de ANP *CEN-17* contenidas en la mezcla de sondas *HER2/CEN-17* IQISH se han testado individualmente y combinadas, confirmando su hibridación específica con la región centromérica del cromosoma 17.

Para medir la capacidad del ensayo para identificar de forma exclusiva las sustancias diana *HER2* y *CEN-17* sin interferencia de otras sustancias, se realizaron estudios en muestras de adenocarcinoma de cáncer gástrico usando el Vial 3 que contenía el tampón de hibridación pero no la mezcla de sondas. Se evaluaron un total de 18 muestras en busca de la presencia de señales no relacionadas con la mezcla de sondas. No se observó detección de otras dianas cromosómicas ni interferencia con sustancias estrechamente relacionadas en ninguno de las 18 muestras

Estudios de robustez

La robustez del ensayo *HER2* IQFISH pharmDx se evaluó variando el tiempo y la temperatura de pretratamiento y los métodos de calentamiento del tampón de pretratamiento (horno microondas o baño de agua), el tiempo y el método de incubación con pepsina (pepsina RTU o inmersión), la temperatura y el tiempo de desnaturalización, el tiempo de hibridación, y el tiempo y la temperatura del lavado astringente.

No se observó ninguna diferencia significativa en los resultados bajo las siguientes condiciones experimentales:

- Método de pretratamiento A) Baño de agua durante 10 minutos combinado con cada una de las siguientes temperaturas: 95 °C, 95–99 °C, y 99 °C junto a 9, 10 y 11 minutos a 95–99 °C
- Método de pretratamiento B) Horno microondas durante 9, 10 y 11 minutos a temperaturas de >95 °C.
- Método de digestión con pepsina A) con tiempos de incubación de 5, 10 y 15 minutos temperatura ambiente (20–25 °C).
- Método de digestión con pepsina B) con tiempos de incubación de 3, 4 y 5 minutos a 37 °C.
- Método de digestión con pepsina C) con tiempos de incubación de 20, 25 y 30 minutos combinados con cada una de las siguientes temperaturas: 35, 37 y 39 °C.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- Desnaturalización durante 10 minutos combinado con cada una de las siguientes temperaturas: 65, 66 y 67 °C junto a 9, 10 y 11 minutos a 66 °C.
- Tiempos de hibridación de 60, 90 y 120 minutos a una temperatura de 45 °C.
- Lavado astringente durante 10 minutos combinado con cada una de las siguientes temperaturas: 61, 63 y 65 °C junto a 9, 10 y 11 minutos a 63 °C.

Nota: Para las pruebas de robustez sólo se cambió un parámetro del procedimiento de tinción a la vez, mientras que el resto de parámetros se mantuvieron constantes. Se recomienda respetar el tiempo y las temperaturas indicadas en el procedimiento de tinción.

Repetibilidad

La repetibilidad de la proporción HER2/CEN-17 se investigó con el ensayo HER2 IQFISH pharmDx utilizando cortes consecutivos de nueve muestras diferentes de adenocarcinoma gástrico, con el estado del gen HER2 no amplificado o amplificado. Se analizaron cortes por triplicado de cada muestra en el mismo procedimiento. El coeficiente de variación promedio fue del 3,5% para muestras no amplificadas (intervalo desde el 1% al 5%) y del 2,8% para muestras amplificadas (intervalo desde el 1% al 5%).

La repetibilidad en cortes consecutivos de muestras de adenocarcinoma gástrico con espesores diferentes (2, 3, 4, 5, 6, y 7 µm) fue evaluada con HER2 IQFISH pharmDx. El coeficiente de variación de la proporción HER2/CEN-17 fue del 4,5 (intervalo del 3% al 6%), es decir, en el mismo intervalo que el tejido de igual espesor y dentro de los criterios de aceptación preestablecidos.

Reproducibilidad

Se probó el ensayo HER2 IQFISH pharmDx en lo referente a reproducibilidad lote a lote y observador a observador usando tres lotes de HER2 IQFISH pharmDx y tres observadores. La reproducibilidad se analizó en nueve muestras de adenocarcinoma gástrico diferentes con los estados del gen HER2 no amplificado y amplificado.

El coeficiente de variación promedio de la reproducibilidad lote a lote fue del 3,8% para muestras no amplificadas (intervalo desde el 2% al 7%) y del 1,8% para muestras amplificadas (intervalo desde el 1% al 3%).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

El coeficiente de variación promedio de la reproducibilidad observador a observador fue del 4,3% para muestras no amplificadas (intervalo desde el 3% al 5%) y del 4,4% para muestras amplificadas (intervalo desde el 2% al 7%). Las muestras de adenocarcinoma gástrico consistieron en un 78,8% de muestras de resección y en un 22,2% de muestras de biopsia. El 55,6% de las muestras se obtuvieron del estómago y un 44,4% de la unión gastroesofágica.

Utilidad clínica

La utilidad clínica de Dako HER2 IQFISH pharmDx (nº de catálogo K5731) se investigó en un estudio comparativo con el kit Dako HER2 FISH pharmDx (nº de catálogo K5331). El estudio incluía 79 muestras de cáncer gástrico que consistían en diferentes tipos de tejido de adenocarcinoma gástrico, como adenocarcinomas del estómago o de la unión gastroesofágica y resecciones o biopsias con distribución de señales homogéneas o heterogéneas (focales o en mosaico). Todos los tumores han sido evaluados en cuanto al estado de la expresión de la proteína HER2 usando Dako HercepTest™ (nº de catálogo K5207). En el estudio se incluyeron muestras de cada uno de los cuatro grupos de puntuación IHC (0, 1+, 2+, 3+). La tabulación cruzada del estado de HER2 obtenida por los dos ensayos arrojaron una coincidencia general del 98,7% con los límites inferior y superior del intervalo de confianza del 95% en 94,2% y 99,9%. El valor kappa fue 0,97, siendo los límites inferiores y superiores del intervalo de confianza del 95% 0,92 y 1,00. El valor p de la prueba de McNemars fue 1,00, indicando la ausencia de sesgo entre los dos ensayos.

93.

Cancer de mama

Eficiencia de la hibridación

La eficiencia de la hibridación de *HER2* IQFISH pharmDx se investigó con 180 cortes de tejido en parafina y fijados con formol analizados en tres centros de estudio. Los 180 cortes de tejido pudieron enumerarse de acuerdo con las directrices de enumeración del producto. La eficiencia de la hibridación fue del 100%.

Las proporciones *HER2*/CEN-17 calculadas y utilizadas en los estudios de características de resultados se basan en el recuento de señales en 20 núcleos realizado según las pautas de



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

puntuación proporcionadas en la sección Interpretación de la tinción de estas instrucciones de uso.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se investigó con 20 muestras tisulares diferentes de carcinoma de mama (10 muestras con el estado del gen *HER2* amplificado y 10 muestras sin amplificar). La proporción entre el número de señales de *HER2* y de señales de CEN-17 se calculó en función del recuento realizado en 20 núcleos de células normales de la muestra tisular. La proporción *HER2*/CEN-17 de células normales que se identificó en las 20 muestras tisulares de carcinoma de mama fue de entre 0,97 y 1,11.

Especificidad analítica

Las sondas de ADN *HER2* de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se han secuenciado en los extremos y mapeado para confirmar una cobertura total de 218 kb, incluido el gen *HER2*. Las sondas de ANP CEN-17 contenidas en *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se han evaluado individualmente y de forma combinada con FISH, y se ha confirmado su hibridación específica con la región centromérica del cromosoma 17.

A fin de excluir la hibridación cruzada con cromosomas que no son el cromosoma 17, se llevaron a cabo estudios de alineaciones metafásicas con arreglo a los procedimientos de control de calidad estándar de Dako. Se evaluó la hibridación específica de las mezclas de sondas de ADN para *HER2* y de ANP para CEN-17 con un total de 275 alineaciones metafásicas con señales distintas. En la totalidad de los 275 casos, la hibridación fue específica del cromosoma 17. No se observó hibridación cruzada con loci de otros cromosomas en ninguno de los 275 casos. De este modo, la especificidad de las sondas fue del 100% (275 de 275).

Para medir la capacidad del ensayo IQFISH para identificar exclusivamente las sustancias diana *HER2* y CEN-17 sin interferencias con otras sustancias, se llevaron a cabo estudios con muestras tisulares de carcinoma de mama en los que se omitieron las sondas de *HER2* y CEN-17 en la mezcla de hibridación y en los que únicamente se utilizó el tampón de hibridación. Se evaluó un total de 20 muestras en busca de señales no relacionadas con la mezcla de sondas. No se observó detección alguna de otras dianas de cromosomas o interferencia con sustancias estrechamente relacionadas en ninguna de las 20 muestras.

Estudios de robustez



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

La robustez del ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se evaluó variando la concentración de las sondas de ANP, el tiempo de recuperación diana, el tiempo de incubación con pepsina, el tiempo de desnaturalización, el tiempo de hibridación y el tiempo y la temperatura del lavado astringente. Los diferentes parámetros se evaluaron en cinco muestras tisulares FFPE de cáncer de mama. Entre estas había tanto muestras tisulares amplificadas como sin amplificar.

Todos los parámetros se analizaron con ajustes inferiores y superiores a los del protocolo estándar, a excepción de la concentración de las sondas de ANP y la temperatura del lavado astringente, para los que el ajuste del protocolo estándar se incluyó en la configuración.

Los parámetros de evaluación fueron:

Concentración de las sondas de ANP: se evaluó al 100% y al +/-17%.

Tiempo de recuperación diana: se evaluó a 13 min 45 s y a 16 min 15 s.

Tiempo de incubación con pepsina: se evaluó a 14 min 45 s y a 16 min 15 s.

Tiempo de desnaturalización: se evaluó a 9 min 45 s y a 10 min 45 s.

Tiempo de hibridación: se evaluó a 70 min y a 80 min.

Tiempo de lavado astringente: se evaluó a 8 min 45 s y 11 min 15 s.

Temp. de lavado astringente: se evaluó a 59 °C, 61 °C y 63 °C.

Las tres concentraciones de las sondas de ANP se valoraron en un diseño de experimento fraccionado (herramienta JMP, SAS) que se realizó con 12 protocolos de tinción diferentes tal y como se indica en la Tabla 2.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 2. Se utilizaron doce protocolos de tinción diferentes en el estudio de robustez.

N.º de protocolo de robustez	Parámetro de evaluación						
	Tiempo de recuperación diana (min)	Tiempo con pepsina (min)	Tiempo de desnaturalización (min)	Tiempo de hibridación (min)	Tiempo de lavado as-tringente (min)	Temp. de lavado as-tringente (°C)	Conc. de ANP en mezcla de sondas
1	16,25	16,25	9,75	80	8,75	59	83%
2	13,75	14,75	10,75	70	8,75	59	100%
3	16,25	14,75	9,75	70	8,75	63	100%
4	13,75	14,75	10,75	80	8,75	61	83%
5	13,75	14,75	9,75	80	11,25	59	117%
6	13,75	16,25	10,75	70	11,25	63	83%
7	13,75	16,25	10,75	70	11,25	63	100%
8	16,25	14,75	9,75	70	11,25	61	83%
9	13,75	16,25	9,75	70	8,75	61	117%
10	16,25	16,25	10,75	70	11,25	59	117%
11	16,25	16,25	10,75	80	11,25	61	100%
12	16,25	14,75	10,75	80	8,75	63	117%

El total de las cinco muestras tisulares se tiñeron con los 12 protocolos.

La lectura del estudio de robustez incluía los resultados relacionados con la intensidad de las señales y la calidad morfológica. Todos los protocolos produjeron tinciones en todas las muestras tisulares (60 en total) con señales que fueron brillantes, diferenciadas, fáciles de evaluar y, por consiguiente, aptas para la enumeración de señales.

Además, el efecto del grosor del tejido en los resultados del ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se evaluó variando el grosor del corte de las muestras tisulares FFPE de cáncer de mama.

Se evaluó un total de cinco cortes consecutivos de cinco muestras de carcinoma de mama humano con diferentes grosores (3, 4, 5, 6 y 7 μ m) mediante el ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis). El coeficiente promedio de variación de la proporción *HER2*/CEN-17 fue del 5,8% (con una oscilación de entre el 4,3% y el 7,1%).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGDANOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad intralaboratorio día a día y lote a lote con el ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis). El estudio se diseñó como un estudio interno, ciego y aleatorizado de proporciones *HER2/CEN-17* con cortes de ocho muestras diferentes de cáncer de mama incluidas en parafina y fijadas con formol con diversos niveles de amplificación del gen *HER2*. Las ocho muestras se habían evaluado con HercepTest™ y entre ellas se incluyeron dos muestras con *HER2* IHC 0/1+, dos muestras con *HER2* IHC 2+, dos muestras con *HER2* IHC 3+, y dos muestras con proporción *HER2/CEN-17* FISH predeterminada entre 1,5 y 2,5, y se obtuvieron con *HER2* IQFISH pharmDx (n.º de catálogo K5731). Cada muestra se tiñó con tres lotes diferentes de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) en cinco días no consecutivos. Se procesó un total de 240 tinciones de tejido en todo el estudio, ya que cada combinación se tiñó por duplicado. En la Figura 1 se ilustran las variaciones en las proporciones en función de los días y los lotes. Los datos se analizaron con la transformación Box-Cox a través de un modelo de efectos aleatorios para obtener la homogeneidad de la varianza de los datos. Se estimó que el coeficiente total de variación fue del 4,3% y se halló que la variación entre días y lotes contribuyó con un 1,5% y un 0%, respectivamente.

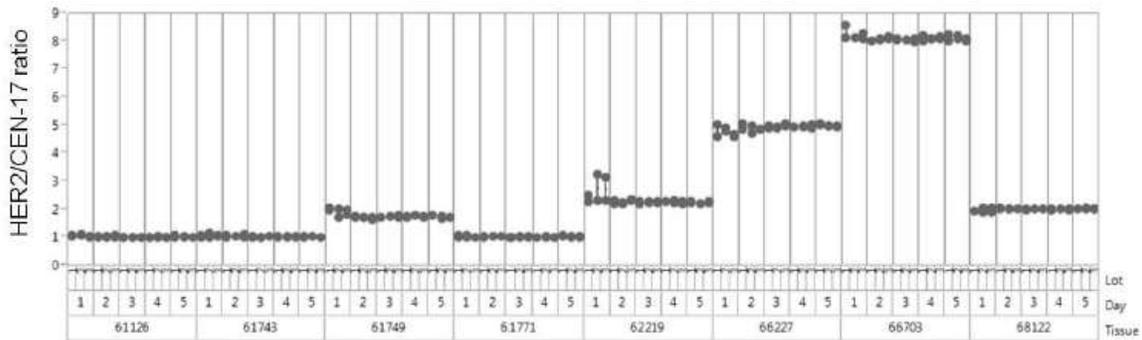


Figura 1. Proporciones *HER2/CEN-17* obtenidas en un estudio de reproducibilidad intralaboratorio con *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis), incluidos los criterios de valoración de reproducibilidad lote a lote y día a día.

Además, se evaluó la reproducibilidad día a día y centro a centro de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) en un estudio estratificado, ciego y llevado a cabo en tres centros (un centro en los Estados Unidos y dos centros en Europa), en el que se utilizaron cortes de tejido de 12 muestras diferentes de cáncer de mama incluidas en parafina y fijadas con formol. Tres

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

muestras fueron HER2 IHC 0/1+; otras tres, HER2 IHC 2+; otras tres, HER2 IHC 3+; y tres muestras tuvieron una proporción *HER2*/CEN-17 FISH predeterminada entre 1,5 y 2,5, y se obtuvieron con HercepTest™ y *HER2* IQFISH pharmDx (n.º de catálogo K5731), respectivamente. Las muestras se tiñeron y analizaron en los centros de estudio. Cada muestra se tiñó un mínimo de cinco veces en cinco días no consecutivos y fue puntuada por un observador en cada centro. Se tiñeron 192 cortes y se incluyeron en el análisis estadístico. Los datos se analizaron con la transformación Box-Cox y se calcularon los componentes de la varianza. El coeficiente total de variación, basado en el límite de confianza superior del 95%, fue del 15%. La variación de la proporción *HER2*/CEN-17 por día y centro queda reflejada en la Figura 2.

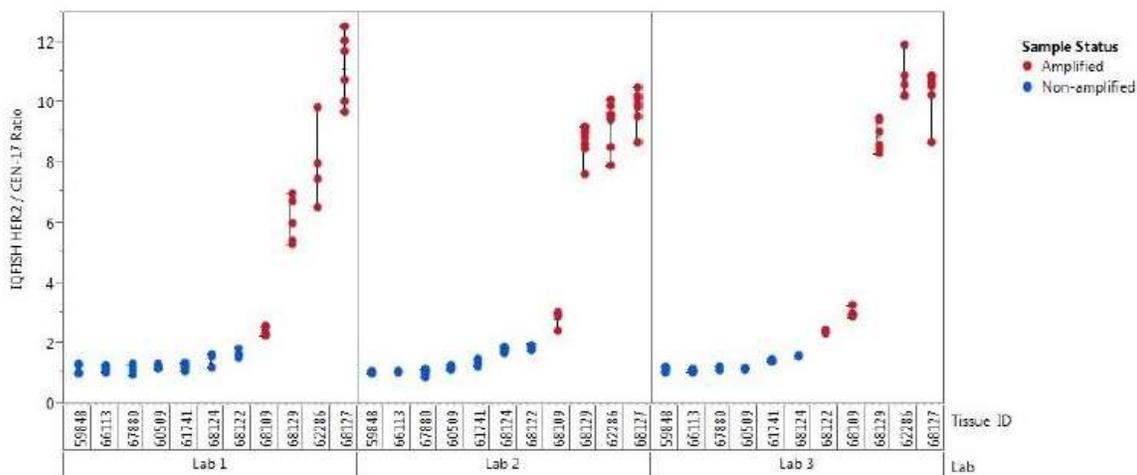


Figura 2. Gráfico en el que se representa la variabilidad de las proporciones *HER2*/CEN-17 en unidades no transformadas obtenidas en el estudio de reproducibilidad día a día y centro a centro de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) en muestras tisulares de cáncer de mama.

El ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se evaluó para obtener la reproducibilidad observador a observador como parte del estudio de comparación de métodos realizado de forma interna, utilizando tres observadores para puntuar las muestras teñidas por separado. Se evaluó la reproducibilidad en 140 muestras diferentes de carcinoma de mama humano con el estado del gen *HER2* amplificado o sin amplificar. Los datos se analizaron con la transformación Box-Cox. El coeficiente promedio de variación de observador a observador fue del 9%.


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matriculada Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Repetibilidad

Se evaluó la repetibilidad intralaboratorio de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) con cortes consecutivos de ocho muestras de carcinoma de mama humano con el estado del gen *HER2* amplificado o sin amplificar. Los tejidos se evaluaron por duplicado en cinco días no consecutivos con tres lotes diferentes en un total de 240 portaobjetos (120 cortes duplicados). Se utilizó el modelo de efectos aleatorios para analizar los datos que arrojaron una varianza atribuible a los días y los lotes (como se indicaba en el estudio de reproducibilidad interno). La varianza residual equivale a la varianza entre réplicas y, por consiguiente, equivale a repetibilidad. El límite de confianza superior del 95% para el coeficiente de repetibilidad de variación fue del 4,4%.

Gástrico

Eficiencia de la hibridación

La eficiencia de la hibridación de *HER2* IQFISH pharmDx se investigó con 180 cortes de tejido en parafina y fijados con formol analizados en tres centros de estudio. Los 180 cortes de tejido pudieron enumerarse de acuerdo con las directrices de enumeración del producto. La eficiencia de la hibridación fue del 100%.

Las proporciones *HER2*/CEN-17 calculadas y utilizadas en los estudios de características de resultados se basan en el recuento de señales en 20 núcleos realizado según las pautas de puntuación proporcionadas en la sección Interpretación de la tinción de estas instrucciones de uso.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se investigó con 20 muestras diferentes de adenocarcinoma de cáncer gástrico (10 muestras con el estado del gen *HER2* amplificado y 10 muestras sin amplificar). La proporción entre el número de señales de *HER2* y de señales de CEN-17 se calculó en función del recuento realizado en 20 núcleos de células normales de la muestra tisular. La proporción *HER2*/CEN-17 para las 20 muestras tisulares de adenocarcinoma de cáncer gástrico fue de entre 0,94 y 1,19.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Especificidad analítica

Las sondas de ADN *HER2* de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se han secuenciado en los extremos y mapeado para confirmar una cobertura total de 218 kb, incluido el gen *HER2*. Las sondas de ANP CEN-17 contenidas en *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se han evaluado individualmente y de forma combinada, y se ha confirmado su hibridación específica con la región centromérica del cromosoma 17.

A fin de excluir la hibridación cruzada con cromosomas que no son el cromosoma 17, se llevaron a cabo estudios de alineaciones metafásicas con arreglo a los procedimientos de control de calidad estándar de Dako. Se evaluó la hibridación específica de las mezclas de sondas de ADN para *HER2* y de ANP para CEN-17 con un total de 275 alineaciones metafásicas con señales distintas. En la totalidad de los 275 casos, la hibridación fue específica del cromosoma 17. No se observó hibridación cruzada con loci de otros cromosomas en ninguno de los 275 casos. De este modo, la especificidad de las sondas fue del 100% (275 de 275).

Para medir la capacidad del ensayo IQFISH para identificar exclusivamente las sustancias diana *HER2* y CEN-17 sin interferencias con otras sustancias, se llevaron a cabo estudios con muestras de adenocarcinoma gástrico en los que se omitieron las sondas de *HER2* y CEN-17 en la mezcla de hibridación y en los que únicamente se utilizó el tampón de hibridación. Se evaluó un total de 20 muestras en busca de señales no relacionadas con la mezcla de sondas. No se observó detección alguna de otras dianas de cromosomas o interferencia con sustancias estrechamente relacionadas en ninguna de las 20 muestras.

Estudios de robustez

La robustez del ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se evaluó variando la concentración de las sondas de ANP, el tiempo de recuperación diana, el tiempo de incubación con pepsina, el tiempo de desnaturalización, el tiempo de hibridación y el tiempo y la temperatura del lavado astringente. Los diferentes parámetros se evaluaron en tres muestras tisulares FFPE diferentes de adenocarcinoma gástrico y en dos muestras tisulares FFPE de la unión gastroesofágica (UGE). En cada grupo se incluyeron tanto muestras tisulares amplificadas como sin amplificar.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Todos los parámetros se analizaron con ajustes inferiores y superiores a los del protocolo estándar, a excepción de la concentración de las sondas de ANP y la temperatura del lavado astringente, para los que el ajuste del protocolo estándar se incluyó en la configuración.

Los parámetros de evaluación fueron:

Concentración de las sondas de ANP: se evaluó al 100% y al +/-17%.

Tiempo de recuperación diana: se evaluó a 13 min 45 s y a 16 min 15 s.

Tiempo de incubación con pepsina: se evaluó a 14 min 45 s y a 16 min 15 s.

Tiempo de desnaturalización: se evaluó a 9 min 45 s y a 10 min 45 s.

Tiempo de hibridación: se evaluó a 70 min y a 80 min.

Tiempo de lavado astringente: se evaluó a 8 min 45 s y 11 min 15 s.

Temp. de lavado astringente: se evaluó a 59 C, 61 C y 63 C.

Las tres concentraciones de las sondas de ANP se valoraron en un diseño de experimento fraccionado (herramienta JMP, SAS) que se realizó con 12 protocolos de tinción diferentes tal y como se indica en la Tabla 12.

Tabla 12. Se utilizaron doce protocolos de tinción diferentes en el estudio de robustez.

N.º de protocolo de robustez	Parámetro de evaluación						
	Tiempo de recuperación diana (min)	Tiempo con pepsina (min)	Tiempo de desnaturalización (min)	Tiempo de hibridación (min)	Tiempo de lavado astringente (min)	Temp. de lavado astringente (°C)	Conc. de ANP en mezcla de sondas
1	16,25	16,25	9,75	80	8,75	59	83%
2	13,75	14,75	10,75	70	8,75	59	100%
3	16,25	14,75	9,75	70	8,75	63	100%
4	13,75	14,75	10,75	80	8,75	61	83%
5	13,75	14,75	9,75	80	11,25	59	117%
6	13,75	16,25	10,75	70	11,25	63	83%
7	13,75	16,25	10,75	70	11,25	63	100%
8	16,25	14,75	9,75	70	11,25	61	83%
9	13,75	16,25	9,75	70	8,75	61	117%
10	16,25	16,25	10,75	70	11,25	59	117%
11	16,25	16,25	10,75	80	11,25	61	100%
12	16,25	14,75	10,75	80	8,75	63	117%

El total de las cinco muestras tisulares se tiñeron con los 12 protocolos.

La lectura del estudio de robustez incluía los resultados relacionados con la intensidad de las señales y la calidad morfológica. Todos los protocolos produjeron tinciones en todas las



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGINOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

muestras tisulares (60 en total) con señales que fueron brillantes, diferenciadas, fáciles de evaluar y, por consiguiente, aptas para la enumeración de señales.

Además, el efecto del grosor del tejido en los resultados del ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) se evaluó variando el grosor del corte de las muestras tisulares FFPE de cáncer de gástrico.

Se evaluó un total de cinco cortes consecutivos de muestras de adenocarcinoma con diferentes grosores (2, 3, 4, 5, 6 y 7 μm) mediante el ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis). El coeficiente promedio de la varianza de la proporción *HER2*/CEN-17 fue del 3,9% (con una oscilación de entre el 3,2% y el 5,0%).

Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad intralaboratorio día a día y lote a lote con el ensayo *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis). El estudio se diseñó como un estudio interno, ciego y aleatorizado de proporciones *HER2*/CEN-17 con cortes de ocho muestras diferentes de cáncer gástrico y de la unión gastroesofágica (UGE) incluidas en parafina y fijadas con formol con diversos niveles de amplificación del gen *HER2*. Las ocho muestras se habían evaluado con HercepTest™ y entre ellas se incluyeron dos muestras con *HER2* IHC 0/1+, dos muestras con *HER2* IHC 2+, dos muestras con *HER2* IHC 3+, y dos muestras con proporción *HER2*/CEN-17 FISH predeterminada entre 1,5 y 2,5, y se obtuvieron con *HER2* IQFISH pharmDx (n.º de catálogo K5731). Cada muestra se tiñó con tres lotes diferentes de *HER2* IQFISH pharmDx™ (Dako Omnis) en cinco días no consecutivos. Se procesó un total de 240 tinciones de tejido en todo el estudio, ya que cada combinación se tiñó por duplicado. En la Figura 8 se ilustran las variaciones en la proporción en función de los días y los lotes. Los datos se analizaron con la transformación Box-Cox a través de un modelo de efectos aleatorios para obtener la homogeneidad de la varianza de los datos. Se estimó que el coeficiente total de variación fue del 6,5% y se halló que la variación entre días y lotes contribuyó con un 0,7% y un 0,8%, respectivamente.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

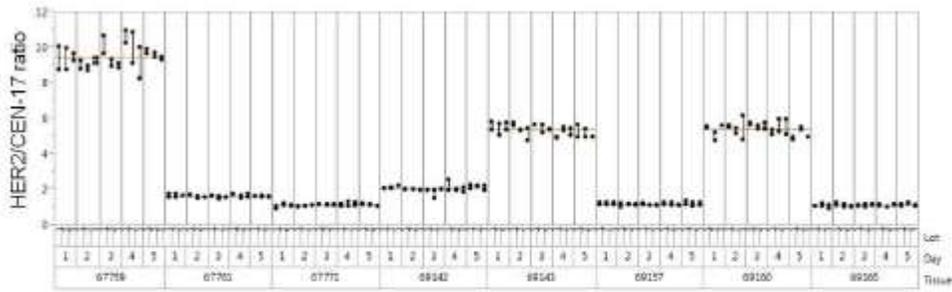


Figura 8. Proporciones *HER2*/CEN-17 obtenidas en un estudio de reproducibilidad intralaboratorio con *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis), incluidos los criterios de valoración de reproducibilidad lote a lote y día a día. El valor promedio de cada muestra tisular se representa mediante una línea horizontal.

Repetibilidad

Se evaluó la repetibilidad intralaboratorio de *HER2* IQFISH pharmDx (Dako Omnis) con cortes consecutivos de ocho muestras de adenocarcinoma gástrico con el estado del gen *HER2* amplificado o sin amplificar. Los tejidos se evaluaron por duplicado en cinco días no consecutivos con tres lotes diferentes en un total de 240 portaobjetos (120 cortes duplicados). Se utilizó el modelo de efectos aleatorios para analizar los datos que arrojaron una varianza atribuible a los días y los lotes (consulte el estudio de reproducibilidad interno mencionado con anterioridad). La varianza residual representa la varianza entre réplicas y, por consiguiente, indica repetibilidad. El límite de confianza superior del 95% para el coeficiente de repetibilidad de variación fue del 7,1%.

14. Condiciones de almacenamiento y transporte

Almacenar a 2-8 °C. No debe utilizarse después de la fecha de caducidad que aparece impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad en este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. Si observa tinciones inesperadas que no puedan atribuirse a las variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospecha que existe un problema con el anticuerpo, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Dako.


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

15. Precauciones generales

1. Para uso diagnóstico in vitro.
2. Para usuarios profesionales.
3. Este producto contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. A las concentraciones en las que está presente en el producto, aunque no se clasifican como peligrosas, la azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre, lo que formará acumulaciones de azidas metálicas muy explosivas. Tras desechar el producto, abra el grifo y deje que salga abundante agua para despejar las cañerías de cualquier acumulación de azidas.
4. Al igual que con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deberán aplicarse procedimientos adecuados de manejo.
5. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
6. La solución no utilizada debe desecharse de acuerdo a las normativas locales, nacionales y de la UE.

16. Indicación al consumidor

Ante cualquier duda o consulta comunicarse con las siguientes vías de contacto:

Teléfono: 011-4509-9000

E-mail: aalvarez@analytical.com



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 198 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.12.22 07:22:01 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.12.22 07:22:03 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004696-22-9

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente Nº 1-0047-3110-004696-22-9

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por Analytical Technologies SA. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Comercial: Anticuerpos para inmunoclasificación de neoplasias de origen neuroepitelial.

Indicación/es de uso:

Los anticuerpos están indicados para su uso en inmunohistoquímica, para la identificación y clasificación de tumores de origen neuroepitelial incluyendo:

- adenocarcinoma de próstata,
- adenocarcinomas colorrectales,
- adenocarcinomas endometriales
- adenocarcinomas escamosos pulmonares

- adenocarcinomas gástricos,
- angiomiolipomas
- cáncer ovárico mucinoso primario
- carcinoma escamoso de cuello uterino
- carcinoma esofágico
- carcinoma pancreático
- carcinomas colangiocelulares
- carcinomas corticosuprarrenales
- carcinomas de células transicionales de la vejiga urinaria
- carcinomas de ovario serosos
- carcinomas mamarios,
- carcinomas renales de células cromóforas
- carcinomas tiroideos
- condroblastoma,
- enfermedades hepáticas neoplásicas,
- hemangioendoteliomas epitelioides
- histiocitosis de Langerhans,
- leucemia de células pilosas
- linfomas esplénicos con linfocitos vellosos
- melanoma maligno,
- mesotelioma epitelial maligno
- metaplasia intestinal en el esófago de Barret
- metaplasia intestinal adenocarcinoma de colon con metástasis ovárica
- neoplasias de origen astrocítico/glial
- neuroblastomas,
- retinoblastomas
- schwannoma
- seminomas
- tumores de células germinales
- tumores del saco vitelino,
- tumores neuroendocrinos con segregación de gastrina

La clasificación diferencial se complementa con los resultados de un panel de anticuerpos. La interpretación de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse mediante estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas. Estos anticuerpos están indicados para su uso después de realizar el diagnóstico primario del tumor mediante histopatología convencional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Forma de presentación: 1. 0.2 mL

2. 2 mL

3. 2 mL

4. 0.2 mL

5. 1 mL

6. 1 mL

7. 12 ml para 40-60 determinaciones

8. 12 ml para 40-60 determinaciones

9. 12 ml para 40-60 determinaciones
10. 12 ml para 40-60 determinaciones
11. 12 ml para 40-60 determinaciones
12. 12 ml para 40-60 determinaciones
13. 12 ml para 40-60 determinaciones
14. 12 ml para 40-60 determinaciones
15. 12 ml para 40-60 determinaciones
16. 12 ml para 40-60 determinaciones
17. 12 ml para 40-60 determinaciones
18. 12 ml para 40-60 determinaciones
19. 12 ml para 40-60 determinaciones
20. 12 ml para 40-60 determinaciones
21. 12 ml para 40-60 determinaciones
22. 12 ml para 40-60 determinaciones
23. 12 ml para 40-60 determinaciones
24. 12 ml para 40-60 determinaciones
25. 12 ml para 40-60 determinaciones
26. 12 ml para 40-60 determinaciones
27. 12 ml para 40-60 determinaciones
28. 12 ml para 40-60 determinaciones
29. 12 ml para 40-60 determinaciones
30. 12 ml para 40-60 determinaciones
31. 12 ml para 40-60 determinaciones
32. 12 ml para 40-60 determinaciones
33. 12 ml para 40-60 determinaciones
34. 12 ml para 40-60 determinaciones
35. 12 ml para 40-60 determinaciones
36. 1 y 0.2 mL
37. 1 mL
38. 0.2 mL
39. 1 mL
40. 1 y 0.2 mL
41. 1 mL
42. 1 mL
43. 1 y 0.2 mL
44. 1 y 0.2 mL
45. 1 mL
46. 1 mL
47. 1 y 0.2 mL
48. 0.2 mL
49. 1 y 0.2 mL
50. 1 y 0.2 mL
51. 1 mL
52. 1 y 0.2 mL
53. 1 mL
54. 1 y 0.2 mL

- 55. 0.2 mL
- 56. 1 y 0.2 mL
- 57. 1 y 0.2 mL
- 58. 0.2 mL
- 59. 1 y 0.2 mL
- 60. 1 y 0.2 mL
- 61. 1 y 0.2 mL
- 62. Kit para 50 determinaciones.
- 63. 0.2 mL
- 64. 12 ml para 40-60 determinaciones
- 65. 12 ml para 40-60 determinaciones
- 66. 12 mL.
- 67. 12 mL.
- 68. 12 mL.
- 69. 12 mL.
- 70. 12 mL.
- 71. 12 mL.
- 72. 12 mL.
- 73. 12 mL.
- 74. 12 mL.
- 75. 12 mL.
- 76. 12 mL.
- 77. 12 mL.
- 78. 12 mL.
- 79. 12 mL.
- 80. 12 mL.
- 81. 12 mL.
- 82. 12 mL.
- 83. 12 mL.
- 84. 12 mL.
- 85. 12 mL.
- 86. 12 mL.
- 87. 12 mL.
- 88. 12 mL.
- 89. 12 mL.
- 90. 12 mL.
- 91. 12 mL.
- 92. Kit para 20 determinaciones
- 93. 1.6 mL.

Período de vida útil: A0008, A0231, A0251, A0568 y A0576: 72 meses, conservado entre 2-8 °C.

A0485, M0613, M0758, M0762, M0792, M0804, M0821, M0825, M0869, M0873, M0879, M0888, M7001, M7010, M7018, M7019, M7046, M7072, M7158, M7196, M7202, M7237, M7240 y M7257: 36 meses, conservado entre 2-8 °C.

IR500, IR504, IR508, IR515, IR519, IR524, IR607, IR615, IR616, IR618, IR619, IR620, IR622, IR624, IR626, IR627, IR629, IR633, IR637, IR647, IR658, IR659, IR660, IR661, IR662, IR701, IR777, IR779, IR780, IR612, GA062, GA505, GA508, GA509, GA515, GA524, GA519, GA617, GA615, GA618, GA619, GA616, GA622, GA624, GA626, GA629, GA659, GA660, GA662, GA701, GA777, GA780, M7313, M7315 y M7317: 24 meses, conservado entre 2-8 °C.

IR094, GA500, K5731 y GM333: 18 meses, conservado entre 2-8 °C.

GA074 y GA637: 12 meses, conservado entre 2-8 °C.

SK001: 9 meses, conservado entre 2-8 °C.

M3626: 6 meses, conservado entre 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

1- Fabricante legal: AGILENT TECHNOLOGIES DENMARK APS

2-Sitio de fabricación: AGILENT TECHNOLOGIES SINGAPORE (INTERNATIONAL) PTE. LTD

Sólo para modelos GA062, IR094 y M3626

3-Fabricante legal y sitio de fabricación: AGILENT TECHNOLOGIES, INC.

Lugar de elaboración:

1-Produktionsvej 42, 2600 Glostrup, Dinamarca.

2-No 1 Yishun Avenue 7, 768923, Singapur.

3-5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, California, 95051, EEUU.

6392 Via Real, Carpinteria, California, 93013, Estados Unidos.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 2357-16 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-004696-22-9

N° Identificador Trámite: 40647

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.12.29 10:07:56 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.12.29 10:07:57 -03:00