



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Disposición

Número:

Referencia: 1-47-3110-4465/17-7

VISTO el expediente N° 1-47-3110-4465/17-7 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIO-OPTIC S.R.L. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico uso In Vitro denominados: **1) NCL-L-a-SARC; 2) NCL-L-b-SARC; 3) NCL-L-CD117; 4) NCL-L-CD3-565; 5) NCL-L-CD68; 6) NCL-L-CD99-187; 7) NCL-L-DOG-1; 8) NCL-D-SARC; 9) NCL-DYS1; 10) NCL-DYS2; 11) NCL-DYS3; 12) NCL-L-EGFR; 13) NCL-L-EMA; 14) NCL-L-END; 15) NCL-L-HMB45; 16) NCL-L-KAP-581 Y 17) NCL-L-LAM-578.**

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 establece la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que la Dirección 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 el por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

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) de los productos médicos para diagnóstico de uso In Vitro denominados: **1) NCL-L-a-SARC; 2) NCL-L-b-SARC; 3) NCL-L-CD117; 4) NCL-L-CD3-565; 5) NCL-L-CD68; 6) NCL-L-CD99-187; 7) NCL-L-DOG-1; 8) NCL-D-SARC; 9) NCL-DYS1; 10) NCL-DYS2; 11) NCL-DYS3; 12) NCL-L-EGFR; 13) NCL-L-EMA; 14) NCL-L-END; 15) NCL-L-HMB45; 16) NCL-L-KAP-581 Y 17) NCL-L-LAM-578** , de acuerdo a lo solicitado por la firma BIO-OPTIC S.R.L. con los datos característicos que figuran al pie de la presente.

ARTICULO 2º.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2018-02347533-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM-2234-006”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscribáse 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 CARACTERISTICOS

Nombre comercial: **1) NCL-L-a-SARC; 2) NCL-L-b-SARC; 3) NCL-L-CD117; 4) NCL-L-CD3-565; 5) NCL-L-CD68; 6) NCL-L-CD99-187; 7) NCL-L-DOG-1; 8) NCL-D-SARC; 9) NCL-DYS1; 10) NCL-DYS2; 11) NCL-DYS3; 12) NCL-L-EGFR; 13) NCL-L-EMA; 14) NCL-L-END; 15) NCL-L-HMB45; 16) NCL-L-KAP-581 Y 17) NCL-L-LAM-578.**

Indicación de uso: ANTICUERPOS MONOCLONALES DISEÑADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA EN SECCIONES DE PARAFINA, MEDIANTE MICROSCOPIA OPTICA DE DIFERENTES ANTÍGENOS HUMANOS, RELACIONADOS CON DERMATOPATOLOGÍAS Y ENFERMEDADES EN TEJIDO BLANDO.

Forma de presentación: 1) a 8) y 12 a 17) ENVASES CONTENIENDO: 1 vial x 1.0 ml, 9) a 11) ENVASES CONTENIENDO: 1 vial x 2.5 ml.

Período de vida útil y condición de conservación: 1), 2) y 8) a 11) 12 meses, conservado a 2 y 8°C; 3), 5), 12) a 14), 16) y 17) 36 meses, conservado a 2 y 8°C; 4) 37 meses, conservado a 2 y 8°C; 6) y 15) 30 meses, conservado a 2 y 8°C; 7) 33 meses, conservado a 2 y 8°C.

Condición de venta: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Nombre y dirección del fabricante: LEICA BIOSYSTEMS NEWCASTLE, Balliol Business Park West, Newcastle upon Tyne, NE12 8EW. (REINO UNIDO) .

Expediente N° 1-47-3110-4465/17-7

RÓTULOS



A los rótulos originales se le agregará lo siguiente:

Establecimiento importador:



Excelencia tecnológica y calidad de servicios

Bio-Optic SRL

Hipólito Yrigoyen 2789

Florida, Buenos Aires, Argentina.

Director Técnico: Farm. Silvana Andrea Daou MP 19341

Tel.: (011) 4791-9923

Autorizado por ANMAT

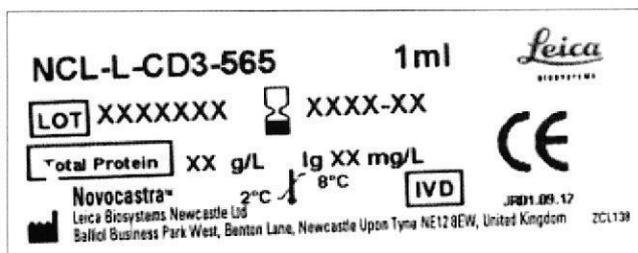
Rótulos originales:

- CD3-565 (CD3-565-L-CE)

Rótulo externo:



Rótulo Interno:



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Andrea Daou
ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

F

- CD68 (CD68-L-CE)

Rótulo externo:

NCL- L- CD68

Leica
BIOSYSTEMS

CE

1ml

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

IVD

Rótulo Interno:

NCL-L -CD68 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

Total Protein X.X g/L Ig 37 mg/L

2°C 8°C **IVD** JRM1.09.12

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL138

- Antígeno de Membrana Epitelial (EMA-L-CE)

Rótulo externo:

NCL- L- EMA

Leica
BIOSYSTEMS

CE

1ml

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

IVD

Rótulo Interno:

NCL- L- EMA 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

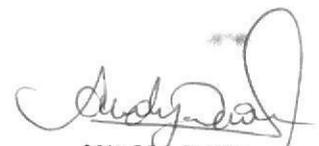
LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

2°C 8°C **IVD** JRM1.09.12

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL138


ANDREEA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HÍPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE



- Receptor Epidérmico del Factor de Crecimiento (EGFR-L-CE)

Rótulo externo:

Rótulo Interno:

NCL-L-EGFR

Leica
BIOSYSTEMS

1ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139



IVD

NCL-L-EGFR 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX  XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C **IVD** **CE**
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom JF01.09.12 ZCL138

- Marcador de Melanoma (HMB45-L-CE)

Rótulo externo:

Rótulo Interno:

NCL-L-HMB45

Leica
BIOSYSTEMS

1ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139



IVD

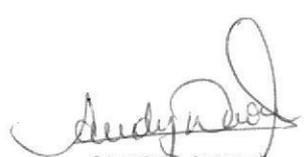
NCL-L-HMB45 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX  XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C **IVD** **CE**
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom JF01.09.12 ZCL138

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- Cadena Liviana Kappa (KAP-581-L-CE)

Rótulo externo:

NCL-L-KAP-581

Leica
BIOSYSTEMS

1ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

IVD

Rótulo Interno:

NCL-L-KAP-581 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C **IVD** JPD1.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

CE

- Cadena Liviana Lambda (LAM-578-L-CE)

Rótulo externo:

NCL-L-LAM-578

Leica
BIOSYSTEMS

1ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

IVD

Rótulo Interno:

NCL-L-LAM-578 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C **IVD** JPD1.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

CE

Andrés Daou

ANDRÉS DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGUYEN 2785 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Lucas M. Villegas

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- CD99 (CD99-187-L-CE)



Rótulo externo:

Rótulo interno:

NCL- L -CD99 -187

Leica
BIOSYSTEMS

CE

1ml

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C / 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

Recycling symbol

Information icon

IVD

NCL- L - CD99 -187 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX

Total Protein XX g/L Ig 9.9 mg/L

Novocastra™ 2°C / 8°C **IVD** JRB1.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

CE

- CD117 (CD117-L-CE)

Rótulo externo:

Rótulo interno:

NCL- L - CD117

Leica
BIOSYSTEMS

CE

1ml

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C / 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

Recycling symbol

Information icon

IVD

NCL- L - CD117 1ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C / 8°C **IVD** JRB1.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

CE

Lucas M. Villegas
LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Andrea Daou
ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791113 / 5435-0175

- *DOG-1 (DOG-1-L-CE)*

Rótulo externo:

NCL- L- DOG-1

Leica
BIOSYSTEMS

1ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

IVD

Rótulo interno:

NCL- L- DOG-1 1ml

Leica
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C

IVD

CE
JF01.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL138

- *Marcador celular epitelial (END-L-CE)*

Rótulo externo:

NCL- L- END

Leica
BIOSYSTEMS

1ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

IVD

Rótulo interno:

NCL- L- END 1ml

Leica
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C

IVD

CE
JF01.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL138

Andrea Daou
ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Lucas M. Villegas
Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE



- *Alpha-Sarcoglycan (A-SARC-L-CE)*

Rótulo externo:

Rótulo interno:

NCL-L-a-SARC

Leica
BIOSYSTEMS

CE

1ml

LOT 6049999

2017-02

2°C / 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com

1ml

i

IVD

PG1.09.12 ZCL139

NCL-L-a-SARC 1ml

LOT 6049999

Total Protein 3.4 g/L **Ig** 65mg/L

2017-02

2°C / 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

CE

IVD JRD1.09.12

- *Beta-Sarcoglycan (B-SARC-L-CE)*

Rótulo externo:

Rótulo interno:

NCL-L-b-SARC

Leica
BIOSYSTEMS

CE

1ml

LOT 6049999

2017-02

2°C / 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com

1ml

i

IVD

P01.09.12 ZCL139

NCL-L-b-SARC 1ml

LOT 6049999

Total Protein 3.4 g/L **Ig** 26mg/L

2017-02

2°C / 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

CE

IVD JRD1.09.12

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Página 90 de 205

- Delta-Sarcoglycan (D-SARC-L-CE)

Rótulo externo:

NCL-d-SARC 1mL Mouse Monoclonal

LOT 6044963 **2017-06** **IVD**

Leica BIOSYSTEMS

<10% Sodium azide
<10% Benzylpenicillin sodium
<10% Streptomycin sulphate

H302: Harmful if swallowed
H317: May cause an allergic skin reaction
H334: May cause allergy or asthma or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled
H411: Toxic to aquatic life with long lasting effects
EUH032 - Contact with acids liberates very toxic gas
P261: Avoid breathing dust
P273: Avoid release to the environment
P280: Wear protective gloves / protective clothing / eye protection
P301 + P310: IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER / a doctor if you feel unwell
P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water
P304 + P340: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing
P342 + P311: If experiencing respiratory problems: Call a POISON CENTER / doctor
P391: Collect spillage

2°C — 8°C

CE CLP NDOUT.05.16

DANGER

Novocastra
Leica Biosystems Newcastle Ltd. NE12 8EW, United Kingdom Tel +44 (0) 191 215 0567

LeicaBiosystems.com ZCL226

Rótulo interno:

NCL-d-SARC 1mL

LOT 6044963 **2017-06**

Leica BIOSYSTEMS

<10% Sodium azide
<10% Benzylpenicillin sodium
<10% Streptomycin sulphate

Total Protein 4.3 g/L
Ig 24 mg/L

Novocastra
Leica Biosystems Newcastle Ltd. NE12 8EW, United Kingdom Tel +44 (0) 191 215 0567.

DANGER
Refer to outer packaging for full label information

2°C — 8°C

CE CLP IVDIMM.05.16

IVD
ZCL225

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 10341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- *Dystrophin (Rod Domain) (DYS1-CE)*



Rótulo externo:

Rótulo interno:

NCL- DYS1

Leica
BIOSYSTEMS

2.5ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

NCL- DYS1 2.5ml **Leica**

LOT XXXXXXXX XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C IVD JF01.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

- *Dystrophin (C-Terminus) (DYS2-CE)*

Rótulo externo:

Rótulo interno:

NCL- DYS2

Leica
BIOSYSTEMS

2.5ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom
www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139

NCL- DYS2 2.5ml **Leica**

LOT XXXXXXXX XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C IVD JF01.09.12

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

Lucas M. Villegas
LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Andrea Daou
ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGUYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- *Dystrophin (N-Terminus) (DYS3-CE)*

Rótulo externo:

NCL- DYS3

Leica
BIOSYSTEMS

2.5ml

CE

LOT XXXXXXXX

XXXX-XX

2°C 8°C

Novocastra™
Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom

www.LeicaBiosystems.com P01.09.12 ZCL139





Rótulo interno:

NCL- DYS3 2.5ml **Leica**
BIOSYSTEMS

LOT XXXXXXXX XXXX-XX

Total Protein XX g/L Ig XX mg/L

Novocastra™ 2°C 8°C **IVD**

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West, Benton Lane, Newcastle Upon Tyne NE12 8EW, United Kingdom ZCL139

CE

JF01.09.12


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



- CD3-565 (CD3-565-L-CE)

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CD3-565 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopia óptica, de antígeno CD3 humano. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistocitoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

LN10

Inmunógeno

Proteína recombinante procariótica correspondiente a la región terminal C de la molécula humana CD3.

Especificidad

Antígeno CD3 humano.

Composición Del Reactivo

NCL-L-CD3-565 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

G.

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 32 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

Recuperación del epítipo inducido por calor (HIER): Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Dilución sugerida: 1:500 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Visualización: Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435.0175



mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es el de las amígdalas.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es músculo esquelético.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol

puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no

inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-CD3-565 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

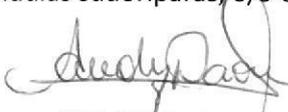
Tejidos normales

El clon LN10 detectó el antígeno CD3 en células T del bazo, el nódulo linfático, el timo y las amígdalas, y células T infiltrantes en muchos otros tejidos. (Número total de casos normales evaluados = 55).

Anormal del tejido

El clon LN10 tiñó 16/280 tejidos anormales evaluados, incluyendo malignidades hematológicas (16/130, incluyendo 4/4 T linfomas linfoblásticos, 4/5 linfomas de células T periféricas, 2/8 linfomas anaplásticos de células grandes, 2/2 linfomas de células NK/T, 1/1 linfomas malignos de células T, 1/1 linfoma difuso de células T grandes, 1/1 linfoma angioinmunoblástico de células T, 1/1 timoma, 0/50 linfomas difusos de células B, 0/15 linfomas de Hodgkin, 0/11 linfomas foliculares, 0/9 linfomas difusos de células B grandes, 0/5 MALTomas, 0/3 linfomas de células del manto, 0/3 linfomas difusos de células grandes, 0/2 linfomas de zonas marginales, 0/2 linfomas de Burkitt, 0/2 linfomas linfocíticos plasmacitoides, 0/2 linfomas no especificados de células T, 0/1 linfoma difuso de células T, 0/1 linfoma no Hodgkin y 0/1 linfoma del tipo Burkitt), tumores de piel (0/81, incluyendo 0/18 melanomas, 0/15 carcinomas de células escamosas, 0/15 carcinomas de células basales, 0/10 carcinomas de glándulas sudoríparas, 0/9 dermatofibrosarcomas, 0/3


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



adenocarcinomas metastásicos, 0/3 schwannomas malignos, 0/2 carcinomas císticos adenoides, 0/1 adenocarcinoma sebáceo, 0/1 fibrosarcoma, 0/1 sarcoma pleomórfico indiferenciado, 0/1 leiomioma, 0/1 fibroxantoma atípico y 0/1 tumor de células de Merkel), tumores de los tejidos blandos (0/8), carcinomas de mama (0/7), tumores ováricos (0/7), tumores pulmonares (0/7), tumores hepáticos (0/5), tumores neuroendocrinos (0/4), carcinomas renales (0/4), tumores gástricos (0/3), carcinomas de la vejiga (0/3), tumores de células germinales (0/3), tumores adrenales (0/3), tumores endometriales (0/3), tumores pancreáticos (0/2), tumores tiroideos (0/2), adenocarcinomas de la próstata (0/2), adenocarcinoma del colon (0/1), carcinoma del intestino delgado (0/1), carcinomas de células escamosas del pene (0/1), carcinoma de células escamosas del cérvix (0/1), ganglioneuroma (0/1) e hiperplasia de la próstata (0/1). (Número total de casos anormales evaluados = 280).

NCL-L-CD3-565 está recomendado para su uso como parte de un panel de anticuerpos para indicar el fenotipo de células T en enfermedades linfoproliferativas.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

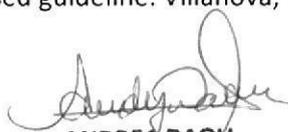
La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Krynitz B, Rozell B and Lindelof B. Differences in peritumoral inflammatory skin infiltrate between squamous cell carcinomas in organ transplant recipients and immunocompetent patients. Acta Dermato Venerologica. 2010; 90:379-385.

Correcciones A La Publicación Anterior

Composición del reactivo, Concentración de proteína total, Recomendaciones de uso, Advertencias y precauciones, Resultados esperados

Fecha De Publicación

27 de marzo de 2013

- CD68 (CD68-L-CE)

Indicaciones De Uso

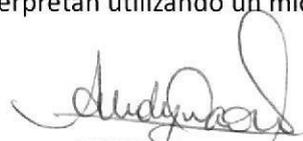
Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CD68 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopia óptica, de antígeno CD68 humano. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2780 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.



Clon

514H12

Inmunógeno

Proteína de fusión procariótica correspondiente a la mitad de terminal carboxilo del dominio externo de la molécula CD68 humana.

Especificidad

Antígeno CD68 humano.

Composición Del Reactivo

NCL-L-CD68 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

Clase de Ig

IgG2a, kappa

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 37 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica con secciones de parafina.

Recuperación del epítipo inducido por calor (HIER): Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

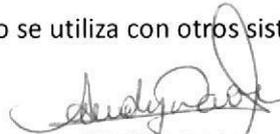
Dilución sugerida: 1:100 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Visualización: Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

Nota: En algunos casos, el paso del bloqueo de peroxidasa inmediatamente posterior a HIER puede afectar a la tinción lograda con este anticuerpo.

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2571 (602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 435-0175

o plataformas automatizadas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

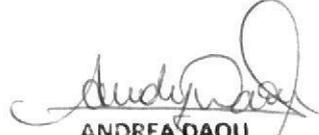
Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S R L.
HIPOLITO YRIGOEYEN 2729 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPLZ - TEL. 4791-0523 / 5435



Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es amígdalas o intestino (macrófagos).

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es las amígdalas (células endoteliales).

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

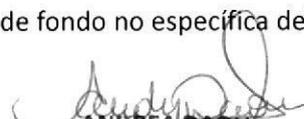
Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-CD68 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon 514H12 detectó la glucoproteína CD68 en la membrana del citoplasma y celular de muchos tipos de células del linaje de células mielomonocíticas, incluyendo monocitos, macrófagos, granulocitos, células microgliales, células de Kupffer del hígado y una buena proporción de células dentríticas. (Número total de casos normales evaluados = 47).

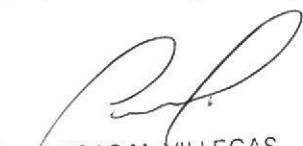
Anormal del tejido

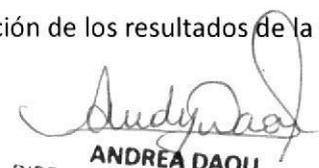
El clon 514H12 tiñó 1/201 tumores evaluados, incluyendo seminomas testiculares (1/2), linfomas (0/80, incluyendo 0/44 linfomas difusos de células B, 0/6 linfomas difusos nodulares de células B, 0/6 linfomas de Hodgkin con celularidad mixta, 0/5 linfomas anaplásicos de células grandes, 0/4 linfomas foliculares no Hodgkin, 0/3 linfomas asociados a la mucosa de células B, 0/3 linfomas de Hodgkin predominantes de linfocitos, 0/2 linfomas de células T, 0/2 linfomas plasmacitoides linfocíticos, 0/1 linfoma de tipo Burkitt. 0/1 linfoma de células del mano, 0/1 linfoma claro de células T, 0/1 linfoma de Lennert y 0/1 linfoma de Hodgkin con esclerosis nodular), tumores de piel (0/77, incluyendo 0/16 carcinoma de células escamosas, 0/15 melanoma maligno, 0/14 carcinoma de células basales, 0/10 carcinoma de células sudoríparas, 0/10 dermatofibrosarcoma, 0/3 adenocarcinoma metastásico, 0/3 schwannoma maligno, 0/2 carcinoma cístico adenoide, 0/1 adenocarcinoma sebáceo, 0/1 fibrosarcoma, 0/1 leiomioma y 0/1 sarcoma pleomórfico indiferenciado), carcinomas hepáticos (0/6), carcinomas papilares tiroideos (0/4), carcinomas pulmonares (0/4), tumores ováricos (0/4), tumores cerebrales (0/2), tumores de los tejidos blandos (0/2), carcinomas metastásicos sin especificar (0/2), carcinomas de células escamosas del esófago (0/2), carcinomas ductales de la mama (0/2), carcinomas de células renales (0/2), adenocarcinomas del estómago (0/2), adenocarcinomas del colon (0/2), adenocarcinomas del recto (0/2), carcinomas de células escamosas de la lengua (0/2), carcinomas de células escamosas del cérvix (0/2), carcinoma de células escamosas de la laringe (0/1) y tumores carcinoides atípicos del timo (0/1). (Número total de casos de tumor evaluados = 201).

NCL-L-CD68 se recomienda para la identificación del antígeno CD68 en diversos tejidos normales y neoplásicos.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2739 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴ Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

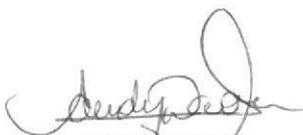
Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Gu M, Sohn KR, Kim DJ, et al. Metastasizing dermatofibroma in lung. Annals of Diagnostic Pathology. 2007; 11:64-67.
6. Da Costa CET, Annels NE, Faaij CMJM, et al. Presence of osteoclast-like multinucleated giant cells in the bone and nonostotic lesions of Langerhans cell histiocytosis. The Journal of Experimental Medicine. 2005; 201(5):687-693.

Correcciones A La Publicación Anterior

Reagent Composition, Total Protein Concentration, Recommendations On Use, Warnings and Precautions, Results Expected.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Fecha De Publicación

05 de febrero de 2013

- *Antígeno de Membrana Epitelial (EMA-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-EMA está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Epithelial Membrane Antigen. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

GP1.4

Inmunógeno

Membrana de glóbulo graso de leche humana.

Especificidad

Antígeno epitelial de membrana humano.

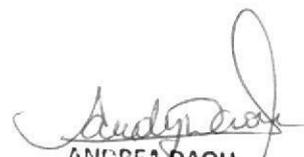
Composición Del Reactivo

NCL-L-EMA es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG1


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791 9923 / 5435 6175



Concentración Total De Proteína

1,0–8,0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 11 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones de parafina. Dilución sugerida: 1:200–1:400 durante 60 minutos a 25°C.

No se recomienda realizar pretratamiento alguno. Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8°C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8°C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

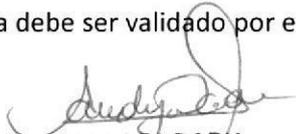
Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.


L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGUYEN 2700
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4.175

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos. Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es mama o colon normales.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es cerebelo.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGUYEN 2789 - FLORIDA 11602
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.



Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-EMA al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon GP1.4 detectó el antígeno epitelial de membrana (EMA, por sus siglas en inglés, o episialina) en el citoplasma y en la membrana apical luminal de una variedad de epitelios normales, incluida la porción apical de las células del revestimiento de los conductos de las glándulas mamarias, así como otros epitelios glandulares, mientras que el epitelio escamoso mostró un patrón desigual de expresión del antígeno (n=35).

Tejidos tumorales

El clon GP1.4 tiñó 17 de 24 carcinomas de pulmón, 16 de 16 carcinomas de mama, 5 de 6 tumores gastrointestinales, 4 de 4 tumores renales, 3 de 8 tumores ováricos, 1 de 3 tumores endometriales, 1 de 3 tumores de tiroides y 1 de 1 adenocarcinoma pancreático. Además, tiñó 6 de 6 carcinomas escamosos, 3 de 3 carcinomas de células de transición y 1 de 1 carcinoma de células basales. No se observó tinción en una variedad de otros tumores evaluados (n=22).

NCL-L-EMA está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos para la clasificación de los tumores de origen epitelial.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y

de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴ Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

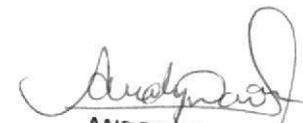
Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kim JH, Han JH and Shim C. Chordoid Glioma. A case report. The Korean Journal of Pathology. 2002; 36:66-69.
6. Kim GY, Lee J, Park Y-K, et al. Pulmonary lymphangioliomyomatosis and micronodular pneumocyte hyperplasia associated with tuberous sclerosis. A case report. The Korean Journal of Pathology. 2002; 36:51-54.
7. Kojima M, Nakamura S, Ichimura K, et al. Centrioblastic and centrioblastic/centrocytic lymphoma associated with a prominent epithelioid granulomatous response: a clinicopathologic study of 50 cases. Modern Pathology. 2002; 15(7):750-758.
8. Yokozaki H, Ukai R, Kawashita E, et al. Chromophobe renal cell carcinoma with osseous metaplasia: a case report. Japanese Journal of Clinical Oncology. 2000; 30:101-104.
9. Yoneda S, Marx A, Heimann S, et al. Low grade metaplastic carcinoma of the thymus. Histopathology. 1999; 35(1):19-30.

Correcciones A La Publicación Anterior


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

No aplicable.

Fecha De Publicación

03 de marzo de 2014

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM sobre tejido incluido en parafina.

Reactivos necesarios que no se incluyen

1. Disolventes estándar utilizados en inmunohistocitoquímica.
2. 0.5% v/v Peróxido de hidrógeno.
3. Solución salina tamponada Tris (TBS) 50 mM pH 7,6.
4. Disolvente de anticuerpo - suero normal en dilución óptima.
5. Suero normal de las especies en las que se ha criado el anticuerpo secundario.
6. Anticuerpo secundario biotinilado - preparar según la recomendación del fabricante.
7. Complejo Avidina/Biotina-peroxidasa de rábano (ABC-HRP) - preparar según la recomendación del fabricante.
8. 3,3' Tetraclorhidrato de Diaminobenzidina (DAB) - preparar según la recomendación del fabricante.
9. Contrateñido hematoxilina - preparar según la recomendación del fabricante.
10. Medio de montaje - utilizar según la recomendación del fabricante.

Equipo necesario, pero no incluido

1. Incubadora graduada a 25 °C.
2. Equipo general para laboratorio de inmunohistocitoquímica.

Soluciones para la recuperación de antígeno

No Aplicable cuando no está recomendado ningún pretratamiento.

Metodología

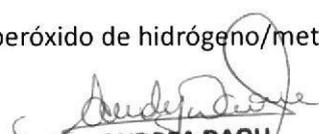
Antes de utilizar esta metodología, los usuarios deben seguir una formación en técnicas de inmunohistocitoquímica.

Los clientes deben determinar las diluciones óptimas para los anticuerpos. Salvo si se indica especialmente, todos los pasos se efectúan bajo temperatura ambiente (25 °C).

1. Cortar y montar las secciones sobre portaobjetos tratados con un adhesivo adecuado para tejidos.
2. Eliminar la parafina de las secciones con xileno o con sustitutos del xileno.
3. Rehidratar mediante alcoholes graduados.
4. Neutralizar la peroxidasa endógena utilizando peróxido de hidrógeno/metanol al 0.5% en v/v durante 10



Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS R.L.
HIPÓLITO YRIGÖYEN 2789 - (1002)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-1122 - 175

minutos.

5. Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo.
6. Lavar las secciones en TBS durante 1 x 5 minutos, balanceando suavemente.
7. Cubrir las secciones con suero normal diluido, durante 10 minutos.
8. Incubar las secciones con anticuerpo primario en dilución óptima (ver Recomendaciones de Uso).
9. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
10. Incubar las secciones en el anticuerpo secundario biotinilado apropiado.
11. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
12. Incubar los portaobjetos en ABC-HRP.
13. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
14. Incubar los portaobjetos en DAB.
15. Enjuagar los portaobjetos con agua.
16. Contrateñir con hematoxilina.
17. Deshidratar, aclarar y montar las secciones.

Correcciones a la Publicación Anterior

No corresponde.

Fecha de Publicación

18 de agosto de 2003

- *Receptor Epidérmico del Factor de Crecimiento (EGFR-L-CE)*

Indicaciones De Uso

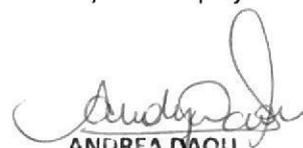
Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-EGFR está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de Epidermal Growth Factor Receptor. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

EGFR.113

Inmunógeno

Proteína de fusión procariótica correspondiente al dominio externo de la molécula de receptor del factor de crecimiento epidérmico.

Especificidad

Dominio externo del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano.

Composición Del Reactivo

NCL-L-EGFR es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG2a

Concentración Total De Proteína

1,0–8,0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 26 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

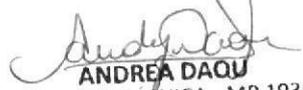
Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones de parafina. Dilución sugerida: 1:10–1:20 durante 60 minutos a 25 °C. Se recomienda realizar recuperación de antígeno a alta temperatura utilizando la solución de recuperación citrato 0,01 M (pH 6,0). Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAQU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2780 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

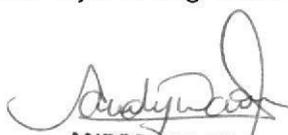
Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2

El tejido de control positivo recomendado es piel.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es cerebelo.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.3 También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

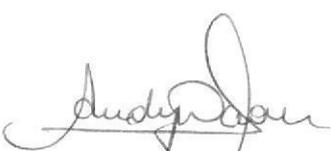
Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-EGFR al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGUYEN 2789 - FLORES (1092)
VALLENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9927/4791-1275

El clon EGFR.113 detecta el antígeno receptor del factor de crecimiento epidérmico en la superficie de las células de una variedad de tejidos normales. Se observó una intensa tinción de la membrana en las células basales de la epidermis de la piel y en el epitelio escamoso estratificado del cérvix y de la amígdala palatina. En la piel, las glándulas ecrinas y sebáceas también dieron positivo. Se observó inmunotinción en el epitelio columnar pseudoestratificado de los bronquios y en el epitelio de transición del tracto urinario. Asimismo, se observó una expresión intensa en los sincitiotrofblastos placentarios. Las glándulas endometriales dieron también positivo, en grado variable.

Tejidos tumorales

El clon EGFR.113 tiñó una variedad de neoplasias (n=67/132), incluidos 9 de 12 carcinomas de vejiga, 17 de 18 carcinomas de células escamosas, 18 de 32 carcinomas de mama, 3 de 3 tumores colorrectales, 2 de 4 carcinomas prostáticos, 6 de 12 adenocarcinomas pulmonares, 2 de 2 carcinomas endometriales, 0 de 4 carcinomas de células pequeñas pulmonares y 0 de 5 linfomas. En algunos tumores puede observarse positividad citoplasmática.

NCL-L-EGFR está recomendado para determinar el estado en cuanto al receptor del factor de crecimiento epidérmico en tejidos normales y neoplásicos.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300-304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498-503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305-310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583-587.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

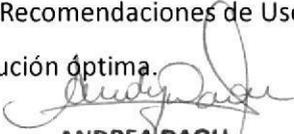
13 de marzo de 2013

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos Novocastra™ sobre tejido incluido en parafina, mediante la técnica de recuperación de antígeno por alta temperatura.

A. Reactivos necesarios que no se incluyen

1. Disolventes estándar utilizados en inmunohistocitoquímica.
2. 0.5% v/v Peróxido de hidrógeno.
3. Solución salina tamponada Tris (TBS) 50 mM pH7,6.
4. Solución(es) recuperadora(s) de antígeno - ver Recomendaciones de Uso.
5. Disolvente de anticuerpo - suero normal en dilución óptima.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGÖYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

6. Suero normal de las especies en las que se ha criado el anticuerpo secundario.
7. Anticuerpo secundario biotinilado - preparar según la recomendación del fabricante.
8. Complejo Avidina/Biotina-peroxidasa de rábano (ABC-HRP) - preparar según la recomendación del fabricante.
9. 3,3' Tetraclorhidrato de diaminobenzidina (DAB) - preparar según la recomendación del fabricante.
10. Contrateñido de hematoxilina - preparar según la recomendación del fabricante.
11. Medio de montaje - utilizar según la recomendación del fabricante.

B. Equipo necesario, pero no incluido

1. Incubadora graduada a 25 °C.
2. Olla a Presión de Acero Inoxidable (Novocastra™ recomienda que las juntas se cambien periódicamente, para mantener las óptimas condiciones de desenmascarado).
3. Equipo general para laboratorio de inmunohistocitoquímica.

Nota de seguridad

Para garantizar la utilización correcta y segura de la olla a presión, POR FAVOR, LEER LAS INSTRUCCIONES DEL FABRICANTE.

C. Soluciones para la recuperación de antígeno (ver Recomendaciones de Uso)

Solución recuperadora de citrato 0,01 M (pH 6,0)

Añadir 3,84 gramos de ácido cítrico (anhidro) a 1,8 L de agua destilada. Ajustar el pH a 6,0 utilizando NaOH 1 M. Completar hasta 2 L con agua destilada.

Solución recuperadora EDTA 1 mM (pH 8,0)

Añadir 0,37 g de EDTA (código SIGMA de producto E-5134) a 1 L de agua destilada. Ajustar el pH a 8,0 utilizando NaOH 0,1M .

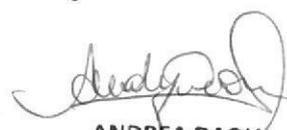
Tris 20mM/EDTA 0,65 mM/Solución recuperadora Tween 20 al 0,0005% (pH 9,0)

Disolver 14,4 g de Tris (código BDH de producto 271197K) y 1,44 g de EDTA (código SIGMA de producto E-5134) en 0,55 L de agua destilada. Ajustar el pH a 9 con HCl 1 M y añadir 0,3 ml de Tween 20 (código SIGMA de producto P-1379). Completar hasta 0,6 L con agua destilada. Se trata de un concentrado 10x que debe diluirse con agua destilada, según necesidad (por ejemplo, 0,15 L diluido con 1,35 L de agua destilada).

D. Metodología

Antes de utilizar esta metodología, los usuarios deben seguir una formación en técnicas de


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-1175

inmunohistocitoquímica. Los clientes deben determinar las diluciones óptimas para los anticuerpos. Salvo si se indica especialmente, todos los pasos se efectúan bajo temperatura ambiente (25 °C).



1. Cortar y montar las secciones sobre portaobjetos tratados con un adhesivo adecuado para tejidos.
2. Eliminar la parafina de las secciones con xileno o con sustitutos del xileno.
3. Rehidratar mediante alcoholes graduados.
4. Neutralizar la peroxidasa endógena utilizando peróxido de hidrógeno/metanol al 0,5% en v/v durante 10 minutos.
5. Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo.

Pretratar las secciones como se describe a continuación:

6. Calentar en una olla a presión, 1,5 L de la solución recuperadora recomendada (ver Recomendaciones de Uso) hasta la ebullición.

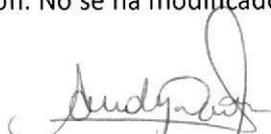
Cubrir, pero no sujetar la tapa. Colocar los portaobjetos en bastidores metálicos de tinción (no colocar los portaobjetos muy juntos, para evitar la tinción desigual) e introducirlos en la olla a presión, asegurándose de que los portaobjetos quedan completamente sumergidos en la solución recuperadora. Cerrar bien la tapa. Cuando la olla a presión alcanza la temperatura y presión de funcionamiento, cronometrar 1 minuto (a menos que se indique diferente en Recomendaciones de Uso). Sacar la olla a presión de la fuente de calor y enfriarla bajo agua corriente, con la tapa cerrada. NO ABRIR LA TAPA HASTA QUE LOS INDICADORES MUESTREN QUE LA PRESIÓN YA SE HA LIBERADO. Abrir la tapa, extraer los portaobjetos y colocarlos inmediatamente en agua fresca del grifo.

7. Lavar las secciones en TBS durante 1 x 5 minutos, balanceando suavemente.
8. Cubrir las secciones con suero normal diluido, durante 10 minutos.
9. Incubar las secciones con anticuerpo primario en dilución óptima (ver Recomendaciones de Uso).
10. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
11. Incubar las secciones en el anticuerpo secundario biotinilado apropiado.
12. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
13. Incubar los portaobjetos en ABC-HRP.
14. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
15. Incubar los portaobjetos en DAB.
16. Enjuagar los portaobjetos con agua.
17. Contrateñir con hematoxilina.
18. Deshidratar, aclarar y montar las secciones.

E. Correcciones a la Publicación Anterior

Sólo se han realizado cambios en la presentación. No se ha modificado el texto con respecto a la publicación anterior.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435 0175

F. Fecha de publicación

23/06/2004

- *Marcador de Melanoma (HMB45-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-HMB45 está indicado para la identificación cualitativa mediante microscopía óptica del antígeno HMB45 humano en secciones de parafina. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

HMB45

Inmunógeno

Extracto de la metástasis del melanoma pigmentado de los nódulos linfáticos.

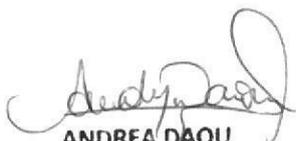
Especificidad

Antígeno humano HMB45.

Composición Del Reactivo

NCL-L-HMB45 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIG-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Clase de Ig

IgG1, kappa



Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 10,8 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica con secciones de parafina.

Recuperación del epítipo inducido por enzima (EIER): Por favor, siga las instrucciones de uso de

Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC).

Dilución sugerida: 1:60 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Visualización: Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

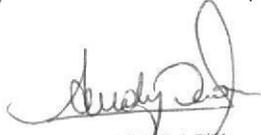
Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2720 - FLORES (11002)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9925, 75

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2

El tejido de control positivo recomendado es el melanoma.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

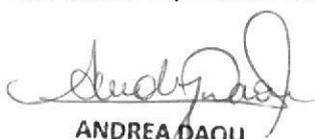
Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es el riñón.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

● **Control De Reactivo Negativo**

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-HMB45 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistocitoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

● **Resultados esperados**

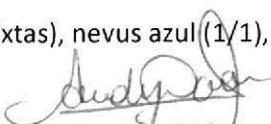
Tejidos normales

El anticuerpo Marcador de Melanoma (clon HMB45) presentó una tinción citoplasmática granular de los melanocitos basales de la piel. El resto de tejidos normales resultaron negativos. (Número total de tejidos normales evaluados = 51).

Anormal del tejido

El Marcador de Melanoma (clon HMB45) tiñó 19/126 tejidos anormales evaluados, incluyendo tumores de piel (18/83, incluyendo 17/20 melanomas malignos, 1/10 carcinomas de las glándulas sudoríparas, 0/17 carcinomas de células escamosas, 0/14 carcinomas de células basales, 0/9 dermatofibrosarcomas, 0/3 schwannomas malignos, 0/3 adenocarcinomas metastásicos, 0/2 carcinomas císticos adenoides, 0/1 adenocarcinoma sebáceos, 0/1 fibrosarcoma, 0/1 leiomioma, 0/1 sarcoma pleomórfico indiferenciado y 0/1 carcinoma de células escamosas/basales mixtas), nevus azul (1/1), carcinomas tiroideos (0/4),

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.

HIPÓLITO YRIGROYEN 2729 FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-8111 / 4791-0175

carcinomas pulmonares (0/4), carcinomas ováricos (0/4), carcinomas pulmonares (0/4), linfomas (0/3), adenocarcinomas colorrectales (0/3), carcinomas de mama (0/2), tumores cerebrales (0/2), carcinomas de células escamosas del esófago (0/2), carcinomas de células escamosas de la laringe (0/2), carcinomas metastásicos de origen desconocido (0/2), adenocarcinomas gástricos (0/2), adenocarcinomas pancreáticos (0/2), adenocarcinomas de próstata (0/2), carcinomas de células renales (0/2) carcinomas de células escamosas del cérvix (0/2). (Número total de casos anormales evaluados = 126).

NCL-L-HMB45 se recomienda para su utilización como parte de un panel de anticuerpos para el diagnóstico de melanomas.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983;


Lic. LUCAS M. VILLÉGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4701-9923 / 5435-0175

Página 123 de 205

14:767.

4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

5. Swetter SM, Ecker PM, Johnson DL, et al. Primary dermal melanoma: a distinct subtype of melanoma. Archives of Dermatology. 2004; 140:99-103.

6. Kapur RP, Bigler SA, Skelly M, et al. Anti-melanoma monoclonal antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1992; 40(2):207-212.

7. Gown AM, Vogel AM, Hoak D, et al. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumours distinguish subpopulations of melanocytes. American Journal of Pathology. 1986; 123(2):195-203.



Correcciones A La Publicación Anterior

Composición Del Reactivo, Concentración Total De Proteína, Recomendaciones De Uso, Advertencias Y Precauciones, Resultados Esperados.

Fecha De Publicación

21 de noviembre de 2012

- Cadena Liviana Kappa (KAP-581-L-CE)

Indicaciones De Uso

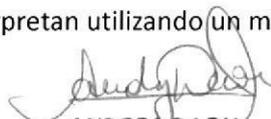
Para uso diagnóstico in vitro.

El NCL-L-KAP-581 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de cadena liviana kappa. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPO. TO YRIGROYEN 2780 FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

CH15

Inmunógeno

Proteína recombinante procariótica correspondiente a 106 aminoácidos de la molécula de cadena liviana kappa humana.

Especificidad

Cadena liviana kappa humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-KAP-581 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

1.0–8.0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 125 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica con secciones de parafina.

Recuperación de epítomos inducida por enzimas (EIER). Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160-K.

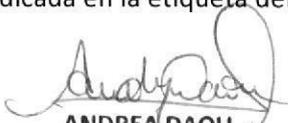
Dilución sugerida: 1:200 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Visualización. Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) o RE7290-K (50 tests).

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.



Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas. 1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

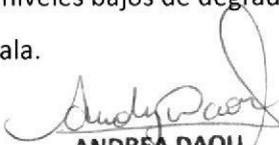
Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo. 2

El tejido de control positivo recomendado es amígdala.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es células foliculares de tiroides.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

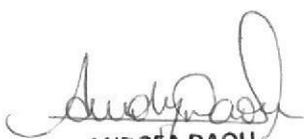
Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-KAP-581 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales



Lc. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791 9923 / 5435-0175

El clon CH15 detectó la proteína cadena liviana lambda en el citoplasma y sobre la membrana de las células plasmáticas. Además de las células plasmáticas en tejidos, cuando estaban presentes, se detectó también la cadena liviana kappa en diversos tejidos, entre ellos en el colon (epitelio), intestino delgado (epitelio), cerebelo (células gliales), riñón (túbulos, glomérulos), glándula suprarrenal, páncreas (acinos, conductos), pulmón (células alveolares, macrófagos), hígado (hepatocitos), estómago (epitelio), esófago (epitelio), bazo (células plasmáticas), ovario (estroma), cuello uterino (epitelio), útero (estroma del endometrio), testículos (túbulos, células de Leydig), próstata (acinos, estroma), timo, mama (epitelio de conductos), hipófisis, médula ósea, apéndice (mesotelio), músculo esquelético, corazón, cordón umbilical (mesotelio) y amígdala (centros germinales, células plasmáticas, linfocitos de la zona del manto). (Número total de casos teñidos = 50)



Tejidos tumorales

El clon CH15 detectó la proteína de la cadena liviana kappa en 53 de 67 enfermedades malignas hematológicas evaluadas, incluidos 13 de 13 linfomas difusos de células B grandes, 11 de 12 linfomas de Hodgkin, 7 de 7 linfomas foliculares, 5 de 6 linfomas de células B no especificadas, 4 de 6 linfomas de células del manto, 3 de 6 linfomas periféricos de células T, 2 de 3 leucemias linfocíticas agudas, 2 de 2 linfomas anaplásicos de células grandes, 2 de 2 maltomas, 1 de 1 linfoma de Burkitt, 1 de 1 linfoma angioinmunoblástico de células T, 1 de 1 linfoma de células NK/T, 1 de 1 linfoma linfoblástico maligno no especificado, 0 de 3 linfomas no especificados de célula T, 0 de 2 linfomas no especificados y 0 de 1 linfoma no Hodgkin no especificado. Aparte de los linfocitos de infiltración, se detectó también la cadena kappa liviana en 57 de 62 enfermedades malignas no linfoides, incluidos 6 de 6 tumores de ovario, 6 de 6 tumores pulmonares, 6 de 6 sarcomas, 4 de 4 tumores de mama, 4 de 4 tumores neuroendocrinos, 4 de 4 tumores renales, 3 de 3 tumores de hígado, 3 de 3 tumores de vejiga, 3 de 3 tumores de suprarrenal, 3 de 3 tumores de endometrio, 1 de 3 tumores de células germinales, 2 de 2 tumores pancreáticos, 2 de 2 carcinomas de células escamosas, 2 de 2 tumores de tiroides, 2 de 2 tumores de próstata, 1 de 1 tumor de colon, 1 de 1 tumor de intestino delgado, 1 de 1 tumor de estómago, 1 de 1 tumor neural, 1 de 1 tumor de la piel y 1 de 1 próstata anormal. No se detectó tinción en melanomas (0 de 2) ni tumores de timo (0 de 1). (Número total de casos teñidos = 129)

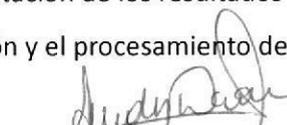
El NCL-L-KAP-581 se recomienda como parte de un panel de anticuerpos para la clasificación del origen de los tumores de células B.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPLZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.4

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248-259.

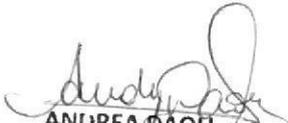
Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

24 de julio de 2013


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- Cadena Liviana Lambda (LAM-578-L-CE)



Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

El NCL-L-LAM-578 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de cadena liviana lambda. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

SHL53.

Inmunógeno

Proteína recombinante procariótica correspondiente a 105 aminoácidos de la molécula de cadena liviana lambda humana.

Especificidad

Cadena liviana lambda humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-LAM-578 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

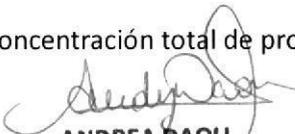
Clase de Ig

IgG1.

Concentración Total De Proteína

1.0–8.0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPLZ - TEL. 4791-9923 / 5435 0175

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 554 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones de parafina. Dilución sugerida: 1:200 durante 30 minutos a 25 °C.

Novolink™ Polymer Detection System RE7280-K, RE7150-K, RE7140-K o RE7290-K Recuperación de epítomos inducida por calor con Epitope Retrieval Solution pH 6.0 (RE7113, RE7114 o RE7115). Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

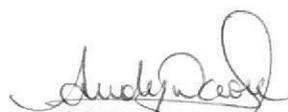
Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

● Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es amígdala.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es células foliculares de tiroides.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

● Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben



considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-LAM-578 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistocitoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

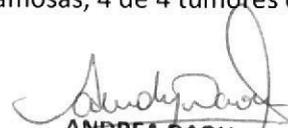
Tejidos normales

El clon SHL53 detectó la proteína de la cadena liviana lambda en el citoplasma y sobre la membrana de las células plasmáticas. Se detectó además la proteína de la cadena liviana lambda en diversos tejidos, entre ellos en el colon (epitelio), intestino delgado (epitelio), cerebelo (células de Purkinje, células gliales), riñón (túbulos, glomérulos), glándula suprarrenal (médula, corteza), páncreas (acinos, conductos), pulmón (células alveolares, macrófagos), hígado (hepatocitos), estómago (epitelio), esófago (epitelio), piel (epitelio basal), bazo (esplenocitos), ovario (estroma), cuello uterino (epitelio basal), útero (glándulas del endometrio), testículos (túbulos, células de Leydig), próstata (acinos), timo, mama (epitelio de conductos y de glándula), hipófisis, médula ósea, apéndice (mesotelio), músculo esquelético, corazón, cordón umbilical (mesotelio) y amígdala (células dendríticas foliculares, células plasmáticas, linfocitos de la zona del manto). (Número total de casos = 43)

Tejidos tumorales

El clon SHL53 detectó la proteína de la cadena liviana lambda en 57 de 72 enfermedades malignas hematológicas evaluadas, incluidos 14 de 14 linfomas difusos de células B grandes, 10 de 13 linfomas de Hodgkin, 7 de 13 leucemias linfocíticas crónicas, 6 de 6 linfomas de células del manto, 5 de 6 linfomas foliculares, 4 de 6 linfomas periféricos de células T, 2 de 2 linfomas anaplásicos de células grandes, 2 de 2 maltomas, 4 de 4 linfomas no especificados, 1 de 1 linfoma no especificado del bazo, 1 de 1 linfoma maligno no especificado, 1 de 1 linfoma de Burkitt, 1 de 1 leucemia linfocítica aguda, 1 de 1 linfoma de zona marginal, 0 de 1 timoma, 0 de 1 linfoma de célula NK/T y 0 de 1 linfoma angioinmunoblástico. Excepto por los linfocitos infiltrantes, se detectó también la cadena liviana lambda en 30 de 40 enfermedades malignas no linfoides incluidos 10 de 10 carcinomas de células escamosas, 4 de 4 tumores de hígado, 2 de 4 tumores


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

de ovario, 2 de 3 tumores colorrectales, 2 de 2 tumores de mama, 2 de 2 tumores de estómago, 2 de 2 tumores de páncreas, 2 de 2 tumores renales, 2 de 2 tumores de próstata, 1 de 2 tumores de pulmón y 1 de 2 carcinomas metastásicos de nodo linfático. No se detectó tinción en tumores de tiroides (0 de 3) ni tumores cerebrales (0 de 2). (Número total de casos = 112)

El NCL-L-LAM-578 se recomienda como parte de un panel de anticuerpos para la clasificación del origen de los tumores de células B.



Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcayai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis

B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

5. Gertz M, Lacy M and Dispenzieri A. Immunoglobulin light chain amyloidosis and the kidney. Kidney International. 2002; 61(1):1-9.

6. Ramsland P and Farrugia W. Crystal structures of human antibodies: a detailed and unfinished tapestry of immunoglobulin gene products. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15:248-259.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

16 de diciembre de 2013

Metodología inmunohistoquímica para la utilización de anticuerpos Novocastra™, en tejidos incluidos en parafina, con la aplicación de la técnica de recuperación de epítomos inducida por calor.

A. Reactivos necesarios que no se suministran

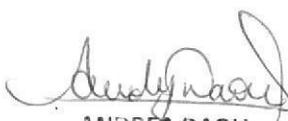
1. Disolventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.
2. Solución salina tamponada con Tris 50 mM (TBS), pH 7,6.
3. Solución para la recuperación de epítomos (véase la sección C Soluciones para la recuperación de epítomos).
4. Diluyente del anticuerpo, Novocastra™ IHC Diluent, RE7133.
5. Sistema de visualización, Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) o RE7290-K (50 tests).
6. Medio de montaje; utilizado de la forma recomendada por el fabricante.

B. Equipo necesario que no se suministra

1. Incubador ajustado a 25 °C.
2. Dispositivo de calentamiento para la recuperación de epítomos: baño de agua o de vapor, olla de presión u otro equipo de laboratorio con temperatura controlada.
3. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.

C. Soluciones para la recuperación de epítomos (véanse las Recomendaciones de uso de alguna de las siguientes)


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

RE7113 Epitope Retrieval Solution pH 6 (x10 Concentrate) 1 L	Tampón basado en citrato, que contiene agente tensioactivo
RE7114 Epitope Retrieval Solution pH 6 (x10 Concentrate) 500 mL	
RE7115 Epitope Retrieval Solution pH 6 (Ready to Use) 1 L	
RE7116 Epitope Retrieval Solution pH 8 (x10 Concentrate) 1 L	Tampón basado en EDTA, que contiene agente tensioactivo
RE7118 Epitope Retrieval Solution pH 8 (Ready to Use) 1 L	
RE7119 Epitope Retrieval Solution pH 9 (x10 Concentrate) 1 L	Tampón basado en Tris/EDTA, que contiene agente tensioactivo
RE7122 Epitope Retrieval Solution pH 9 (Ready to Use) 1 L	

D. Metodología

Antes de poner en práctica esta metodología, los usuarios deben formarse en el uso de las técnicas inmunohistoquímicas.

Los clientes deben determinar las diluciones óptimas de los anticuerpos. A menos que se indique otra cosa, todos los pasos se llevan a cabo a temperatura ambiente (25 °C).

Recuperación de epítomos

Siga las instrucciones de uso de las Epitope Retrieval Solutions RE7113, RE7114, RE7115, RE7116, RE7118, RE7119, RE7122.

Visualización

Siga las instrucciones de uso de los sistemas de detección de polímeros Novolink™ Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) o RE7290-K (50 tests).

E. Correcciones con respecto a la publicación anterior

No aplicable.

F. Fecha de publicación

23 de abril de 2008

- CD99 (CD99-187-L-CE)

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CD99-187 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas CD99. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓCRATES RIGOVÉN 2780 (TORINO 13602)
VICENTE LOPLZ - TEL. 4751-7777

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

PCB1

Inmunógeno

Proteína procariótica recombinante, correspondiente a 101 aminoácidos de la región N terminal de la molécula CD99 humana

Especificidad

CD99 humana

Composición Del Reactivo

NCL-L-CD99-187 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 9,9 mg/L, según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

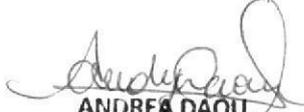
Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

Recuperación de epítomos termoinducida (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Dilución sugerida: 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



Visualización: Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es amígdala.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es músculo esquelético.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.



Tejido Del Paciente

Examine las muestras de pacientes teñidas con NCL-L-CD99-187 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

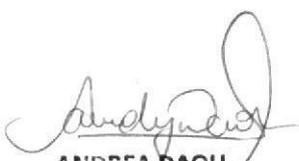
El clon PCB1 detectó la presencia de la glucoproteína transmembrana CD99 en diversos tejidos, incluidos los de materia blanca del cerebelo, oligodendrocitos del cerebro, capilares glomerulares del riñón, células estromales de los ovarios, islotes pancreáticos, células secretoras de la glándula pituitaria, espermatozonios de los testículos, células epiteliales del pulmón, esófago, glándulas salivales, cuello del útero y piel, linfocitos de las amígdalas y el bazo, timocitos, sinusoides hepáticos, epitelio mucoso del intestino delgado y el colon, el mesotelio y el urotelio. El clon PCB1 también tiñó linfocitos periféricos, endotelio y fibroblastos cuando estuvieron presentes. (Cifra total de casos normales evaluados = 105).

Anormal del tejido

El clon PCB1 tiñó 14/50 tumores de tejido blando (incluidos 4/6 leiomiomas, 3/7 fibrosarcomas, 1/4 leiomiomas, 1/3 histiocitomas fibrosos, 1/2 hemangiomas cavernosos, 1/1 mesenquimoma, 1/1 angioleiomioma, 1/1 tumor fibroso solitario, 1/1 ganglioneuroma, 0/5 intersticialomas, 0/4 condrosarcomas, 0/4 rhabdomyosarcomas, 0/2 sarcomas sinoviales, 0/1 fibromatosis, 0/1 fibrolipoma, 0/1 lipoma, 0/1 sarcoma epitelioide, 0/1 mesotelioma, 0/1 hemangiopericitoma, 0/1 liposarcoma, 0/1 mixoliposarcoma y 0/1 dermatofibrosarcoma), 3/3 tumores tiroideos, 2/4 tumores hepáticos, 2/2 sarcomas de Ewing, 1/4 tumores pulmonares, 1/2 adenocarcinomas gástricos, 1/2 tumores cerebrales, 1/2 carcinomas escamosos de lengua, 1/2 tumores metastásicos de origen desconocido y 1/1 carcinomas escamosos de laringe. No se detectó tinción en mielomas (0/6), tumores ováricos (0/4), adenocarcinomas intestinales (0/4), carcinomas de mama (0/2), carcinomas escamosos del esófago (0/2), tumores renales (0/2), tumores de cuello de útero (0/2), seminomas (0/2), tumores cutáneos (0/2) y un tumor del timo (0/1). (Cifra total de casos anormales evaluados = 99).

NCL-L-CD99-187 está recomendado para la detección de proteína CD99 humana en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.


Lc. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPD. TO YRIGOVEN 2729 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

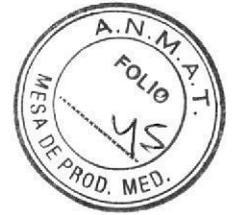
Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Bühnenmann C, Li S, Yu H et al. Quantification of the heterogeneity of prognostic cellular biomarkers in Ewing sarcoma using automated image and random survival forest analysis. PLoS ONE. 2014; 9(9): e107105. doi: 10.1371/journal.pone.0107105.
6. Bahrami A, Truong LD, Ro JY. Undifferentiated tumor: True Identity by Immunohistochemistry. Archives of


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Pathology and Laboratory Medicine. 2008; 132:326-348.



Correcciones A La Publicación Anterior

Resultados esperados; declaración sobre reclamaciones de productos; Bibliografía.

Fecha De Publicación

10 de agosto de 2015

- CD117 (CD117-L-CE)

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CD117 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de c-kit Oncoprotein (CD117). La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

T595

Inmunógeno

Proteína recombinante procariótica correspondiente a los tres dominios extracelulares aminotermiales de tipo C2 de la molécula de oncoproteína c-kit humana.

Especificidad

Oncoproteína c-kit humana.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2780 - FLORIDA (1607)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Composición Del Reactivo

NCL-L-CD117 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG1, kappa

Concentración Total De Proteína

1,0–8,0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 27,0 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones de parafina. Dilución sugerida: 1:20–1:40 durante 60 minutos a 25 °C. Se recomienda realizar recuperación de antígeno a alta temperatura utilizando la solución de recuperación citrato 0,01 M (pH 6,0) O la solución de recuperación EDTA 1 mM (pH 8,0). Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

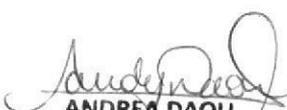
Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.



Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2 El tejido de control positivo recomendado es piel.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

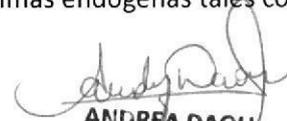
Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es músculo.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.3 También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 (FLORIDA 1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4751 0923 / 5435-0175

(eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-CD117 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon T595 detecta a la oncoproteína c-kit en la membrana de los melanocitos, mastocitos y células gliales.

Tejidos tumorales El clon T595 tiñó una variedad de tejidos neoplásicos (n=24/80), incluidos 10 de 19 melanomas, 1 de 1 fibroadenoma, 1 de 1 neuroblastoma, 1 de 1 carcinoma de células escamosas, 2 de 2 carcinomas de células basales, 1 de 2 leucemia mieloide aguda y 1 de 2 tumores estromales gastrointestinales.

NCL-L-CD117 está recomendado para identificar expresión de la oncoproteína c-kit en una variedad de tejidos normales y neoplásicos, incluidos los tumores estromales gastrointestinales.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido. Una contraindicación excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Sawyer EJ, Poulson R, Hunt FT et al. Malignant phyllodes tumours show stromal overexpression of c-myc and c-kit. Journal of Pathology. 2003; 200:59-64.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

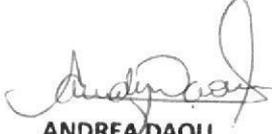
Fecha De Publicación

20 de junio de 2008

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos Novocastra™ sobre tejido incluido en parafina, mediante la técnica de recuperación de antígeno por alta temperatura.

A. Reactivos necesarios que no se incluyen


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

1. Disolventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.
2. 0.5% v/v Peróxido de hidrógeno.
3. Solución salina tamponada Tris (TBS) 50 mM pH7,6.
4. Solución(es) recuperadora(s) de antígeno - ver Recomendaciones de Uso.
5. Disolvente de anticuerpo - suero normal en dilución óptima.
6. Suero normal de las especies en las que se ha criado el anticuerpo secundario.
7. Anticuerpo secundario biotinilado - preparar según la recomendación del fabricante.
8. Complejo Avidina/Biotina-peroxidasa de rábano (ABC-HRP) - preparar según la recomendación del fabricante.
9. 3,3' Tetraclorhidrato de diaminobenzidina (DAB) - preparar según la recomendación del fabricante.
10. Contrateñido de hematoxilina - preparar según la recomendación del fabricante.
11. Medio de montaje - utilizar según la recomendación del fabricante.

B. Equipo necesario, pero no incluido

1. Incubadora graduada a 25 °C.
2. Olla a Presión de Acero Inoxidable (Novocastro™ recomienda que las juntas se cambien periódicamente, para mantener las óptimas condiciones de desenmascarado).
3. Equipo general para laboratorio de inmunohistoquímica.

Nota de seguridad

Para garantizar la utilización correcta y segura de la olla a presión, POR FAVOR, LEER LAS INSTRUCCIONES DEL FABRICANTE.

C. Soluciones para la recuperación de antígeno (ver Recomendaciones de Uso)

Solución recuperadora de citrato 0,01 M (pH 6,0)

Añadir 3,84 gramos de ácido cítrico (anhidro) a 1,8 L de agua destilada. Ajustar el pH a 6,0 utilizando NaOH 1 M. Completar hasta 2 L con agua destilada.

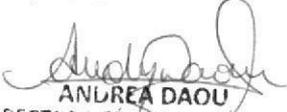
Solución recuperadora EDTA 1 mM (pH 8,0)

Añadir 0,37 g de EDTA (código SIGMA de producto E-5134) a 1 L de agua destilada. Ajustar el pH a 8,0 utilizando NaOH 0,1M .

Tris 20mM/EDTA 0,65 mM/Solución recuperadora Tween 20 al 0,0005% (pH 9,0)

Disolver 14,4 g de Tris (código BDH de producto 271197K) y 1,44 g de EDTA (código SIGMA de producto E-5134) en 0,55 L de agua destilada. Ajustar el pH a 9 con HCl 1 M y añadir 0,3 ml de Tween 20 (código SIGMA de producto P-1379). Completar hasta 0,6 L con agua destilada. Se trata de un concentrado 10x que debe diluirse con agua destilada, según necesidad (por ejemplo, 0,15 L diluido con 1,35 L de agua destilada).


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S R L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2785 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

D. Metodología

Antes de utilizar esta metodología, los usuarios deben seguir una formación en técnicas de inmunohistoquímica. Los clientes deben determinar las diluciones óptimas para los anticuerpos. Salvo si se indica especialmente, todos los pasos se efectúan bajo temperatura ambiente (25 °C).



1. Cortar y montar las secciones sobre portaobjetos tratados con un adhesivo adecuado para tejidos.
2. Eliminar la parafina de las secciones con xileno o con sustitutos del xileno.
3. Rehidratar mediante alcoholes graduados.
4. Neutralizar la peroxidasa endógena utilizando peróxido de hidrógeno/metanol al 0,5% en v/v durante 10 minutos.
5. Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo.

Pretratar las secciones como se describe a continuación:

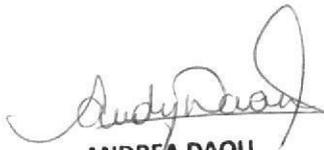
6. Calentar en una olla a presión, 1,5 L de la solución recuperadora recomendada (ver Recomendaciones de Uso) hasta la ebullición.

Cubrir, pero no sujetar la tapa. Colocar los portaobjetos en bastidores metálicos de tinción (no colocar los portaobjetos muy juntos, para evitar la tinción desigual) e introducirlos en la olla a presión, asegurándose de que los portaobjetos quedan completamente sumergidos en la solución recuperadora. Cerrar bien la tapa. Cuando la olla a presión alcanza la temperatura y presión de funcionamiento, cronometrar 1 minuto (a menos que se indique diferente en Recomendaciones de Uso). Sacar la olla a presión de la fuente de calor y enfriarla bajo agua corriente, con la tapa cerrada. NO ABRIR LA TAPA HASTA QUE LOS INDICADORES MUESTREN QUE LA PRESIÓN YA SE HA LIBERADO. Abrir la tapa, extraer los portaobjetos y colocarlos inmediatamente en agua fresca del grifo.

7. Lavar las secciones en TBS durante 1 x 5 minutos, balanceando suavemente.
8. Cubrir las secciones con suero normal diluido, durante 10 minutos.
9. Incubar las secciones con anticuerpo primario en dilución óptima (ver Recomendaciones de Uso).
10. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
11. Incubar las secciones en el anticuerpo secundario biotinilado apropiado.
12. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
13. Incubar los portaobjetos en ABC-HRP.
14. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.
15. Incubar los portaobjetos en DAB.
16. Enjuagar los portaobjetos con agua.
17. Contrateñir con hematoxilina.
18. Deshidratar, aclarar y montar las secciones.

E. Correcciones a la Publicación Anterior

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Sólo se han realizado cambios en la presentación. No se ha modificado el texto con respecto a la publicación anterior.

F. Fecha de publicación

23 de junio de 2004

- DOG-1 (DOG-1-L-CE)

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-DOG-1 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopia óptica, de la proteína DOG-1 humana. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

K9

Inmunógeno

Proteína procariótica recombinante, correspondiente a parte del extremo C terminal del dominio citoplásmico de la molécula DOG-1 humana.

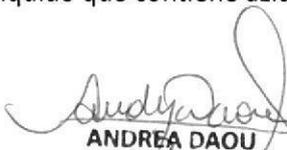
Especificidad

Proteína DOG-1 humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-DOG-1 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGÖYEN 2785 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Clase de Ig

IgG2b

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 12 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

Recuperación de epítomos termoinducida (HIER): Siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Dilución sugerida: 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Nota técnica: El uso de diluyentes basados en PBS puede aumentar la tinción de fondo.

Visualización: Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

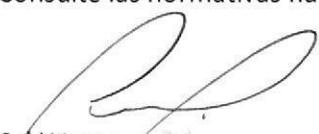
Advertencias Y Precauciones

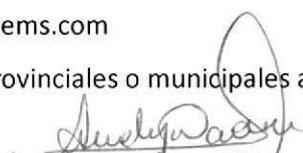
Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar




Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2

El tejido de control positivo recomendado es tumor del estroma gastrointestinal (GIST).

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es cerebelo.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP/19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YEBERON EN 275 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4751-9523 / 5435-0175

excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.



Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-DOG-1 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

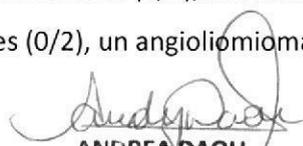
Tejidos normales

El clon K9 detectó la proteína DOG-1, tiñendo la membrana y el citoplasma de las células con un bajo nivel de intensidad en algunos tejidos gástricos (mucosa), cutáneos (mioepitelio de las glándulas sudoríparas) y mamarios (mioepitelio de los conductos y las glándulas), y mostró una tinción variable en algunos casos en las superficies secretoras de las glándulas salivales. (Cifra total de casos normales = 196).

Anormal del tejido

El clon K9 tiñó 43/46 tumores del estroma gastrointestinal, 1/6 liomiosarcomas y 1/1 hemangiopericito sarcoma. No se observó tinción en fibrosarcomas (0/7), condrosarcomas (0/4), liomiomas (0/5), histiocitomas fibrosos (0/3), rabdomiosarcomas pleomórficos (0/2), rabdomiosarcomas alveolares (0/2), hemangiomas cavernosos (0/2), sarcomas sinoviales (0/2), un angioliomoma (0/1), un mesenquimoma


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

(0/1), un fibrolipoma (0/1), un lipoma (0/1), un tumor fibroso solitario (0/1), un sarcoma epiteloide (0/1), un mesotelioma (0/1), un liposarcoma (0/1), un mixoliposarcoma (0/1), un dermatofibrosarcoma (0/1), tumores tiroideos (0/4), tumores pulmonares (0/4), tumores ováricos (0/4), tumores hepáticos (0/4), tumores cerebrales (0/2), tumores esofágicos (0/2), tumores mamarios (0/2), tumores gástricos (0/2), tumores de tejidos blandos (0/2), tumores de la lengua (0/2), tumores metastásicos de origen desconocido (0/2), tumores renales (0/2), tumores de cuello uterino (0/2), tumores testiculares (0/2), tumores del colon (0/2), tumores del recto (0/2), tumores de la piel (0/2), un tumor de la laringe (0/1) ni un tumor del timo (0/1). (Cifra total de casos anormales = 134).

El NCL-L-DOG-1 se recomienda para la detección de proteína DOG-1 humana en tejidos normales y neoplásicos.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

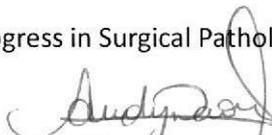
La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOIEN 2750 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4751-0523 / 5435-0175

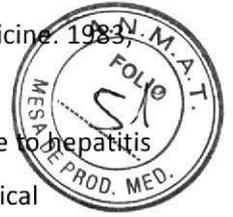
Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.

3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.

4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

5. Novelli M, Rossi S, Rodriguez-Justo M et al. DOG-1 and CD117 are the antibodies of choice in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumours. Histopathology. 2010; 57, 259-270.

6. Miettinen M, Wang ZF and Lasota J. DOG1 Antibody in the differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors, a study of 1840 cases. American Journal of Surgical Pathology, 2009; 33, 1401-1408.



Correcciones A La Publicación Anterior

Composición Del Reactivo, Concentración Total De Proteína, Recomendaciones De Uso, Advertencias Y Precauciones, Resultados Esperados.

Fecha De Publicación

17 de junio de 2015

- *Marcador celular epitelial (END-L-CE)*

Indicaciones De Uso

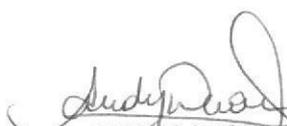
Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-END está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopia óptica, de moléculas CD34 humanas. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistocitoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGÖYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICE-INTÉ LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Clon

QBEnd/10

Inmunógeno

Suspensión vesicular solubilizada con detergente preparada a partir de un perfusado de placenta de embarazo llevado a término humana.

Especificidad

Molécula CD34 humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-END es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 261 mg/L. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

Recuperación del epítipo inducido por enzima (EIER): Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC).

Dilución sugerida: 1:100 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

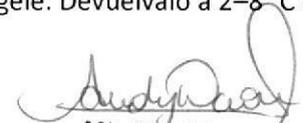
Visualización: Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de


LIC. LUCAS M. VILLÉGAS
SOCIO GERENTE


ANL REA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2755 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4751-9923 / 5435-0175

su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.



Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

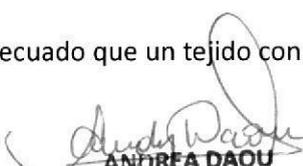
Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREEA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2

El tejido de control positivo recomendado es amígdalas o placenta (endotelio vascular).

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es amígdalas (células no vasculares).

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.3 También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

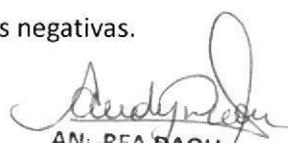
Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-END al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistocitoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.


Liq. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MIP 19341
BIO-CITIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2780 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9223 / 5435-0175



Resultados esperados

Tejidos normales

El clon QBEnd/10 detecta al marcador celular endotelial (CD34) en el citoplasma del endotelio vascular de diversos tejidos normales. (Número total de casos normales evaluados = 57).

Anormal del tejido

El clon QBEnd/10 tiñó 27/137 tejidos anormales evaluados, incluyendo tumores de piel (13/77, incluyendo 9/10 dermatofibrosarcomas, 2/3 schwannomas malignos, 1/1 fibrosarcoma, 1/15 melanomas malignos, 0/16 carcinomas de células escamosas, 0/14 carcinomas de células basales, 0/10 carcinomas de células sudoríparas, 0/3 adenocarcinomas metastásicos, 0/2 carcinomas císticos adenoides, 0/1 adenocarcinoma sebáceo, 0/1 sarcoma pleomórfico indiferenciado y 0/1 leiomioma), leucemias linfoblásticas agudas (6/10), sarcoma de Kaposi (4/4), tumores de los tejidos blandos (2/4, incluyendo 1/1 angiosarcoma, 1/1 hemangioma, 0/1 ganglioneuroma y 0/1 fibromatosis), tumores ováricos (1/4, incluyendo 1/1 tumor de células germinales, 0/2 adenocarcinomas y 0/1 carcinoma de células claras), granuloma piogénico (1/1), carcinomas papilares tiroideos (0/4), carcinomas pulmonares (0/4), tumores de hígado (0/5), carcinomas de mama (0/2), tumores cerebrales (0/2), carcinomas de las células escamosas del esófago (0/2), carcinomas de las células escamosas de la lengua (0/2), carcinomas de las células escamosas del cérvix (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas del estómago (0/2), adenocarcinomas del colon (0/2), adenocarcinomas del recto (0/2), carcinomas de las células renales (0/2), tumores metastásicos sin especificar (0/2), carcinoma de las células escamosas de la laringe (0/1) y tumor carcinoide atípico del timo (0/1) (Número total de casos evaluados = 137).

NCL-L-END se recomienda para la identificación de la expresión de CD34 en distintos tipos de neoplasias, incluyendo tumores vasculares y leucemias linfoblásticas agudas.

Limitaciones Generales

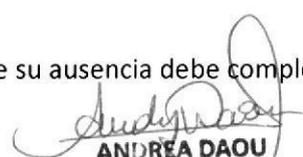
La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGUYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435 0175

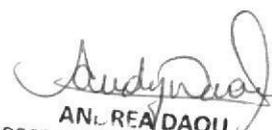
morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tornoczky T, Kover E and Pajor L. Frequent occurrence of low grade cases among metastatic gastrointestinal stromal tumours. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(5):363-367.
6. Lopez-Graniel CM, Tamez de Leon D, Meneses-Garcia A et al. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in oral cavity carcinomas. Journal of Experimental Clinical Cancer Research. 2001, 20(4):463-468.
7. Ridell B and Norrby K. Intratumoral microvascular density in malignant lymphomas of B-cell origin. APMIS. 2001; 109(1):66-72.
8. Watanabe T, Oda Y, Tamiya S et al. Malignant peripheral nerve sheath tumour arising within neurofibroma. An immunohistochemical analysis in the comparison between benign and malignant components. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:631-636.
9. Cox G, Walker RA, Andi A et al. Prognostic significance of platelet and microvessel counts in operable non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2000; 29(3):169-177.
10. Anthony PP and Ramani P. Endothelial markers in malignant vascular tumours of the liver: Superiority of Q-BEND/10 over von Willebrand factor and Ulex europaeus agglutinin 1. Journal of Clinical Pathology. 1991; 44:29-32.
11. Dhillon AP, Sankey EA and More L. QBEND/10, a new immunostain for the routine diagnosis of Kaposi's sarcoma. Journal of Pathology. 1990; 162:274.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2780 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



12. Fletcher CDM and Ramani P. QBEnd/10: a useful, but by no means specific, marker of Kaposi's sarcoma. Journal of Pathology. 1990; 162(3):273.

13. Ramani P, Bradley NJ and Fletcher CDM. QBEND/10: a new monoclonal antibody to endothelium: assessment of its diagnostic utility in paraffin sections. Histopathology. 1990; 17(3):237-242.

Correcciones A La Publicación Anterior

Composición del reactivo, Concentración de proteína total, Recomendaciones de uso, Advertencias y precauciones, Resultados esperados

Fecha De Publicación

29 de mayo de 2013

- *Alpha-Sarcoglycan (A-SARC-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-a-SARC está indicado para la identificación cualitativa en secciones congeladas, mediante microscopía óptica, de moléculas de Alpha-Sarcoglycan (Adhalin). La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

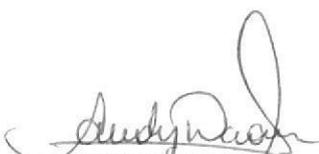
Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

Ad1/20A6


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO OPTIC S.R.L.
F.P.O. TOYRIGUEN 2729 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Inmunógeno

Proteína de fusión que contiene los aminoácidos 217 a 289 de la secuencia de la adhalina de conejo (Roberds SL et al., 1993).

Especificidad

Alfa-sarcoglicano humano, también conocido como adhalina. Además, reacciona intensamente de forma cruzada con el alfasarcoglicano presente en secciones de músculo de ratón, rata, conejo, hámster y cerdo. No reacciona con músculo de pollo.

Composición Del Reactivo

NCL-L-a-SARC es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

1,0–8,0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 58,5 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones congeladas. Dilución sugerida: 1:100–1:200 durante 60 minutos a 25 °C.

Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

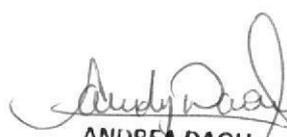
Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

Congele los bloques de tejido en isopentano enfriado en nitrógeno líquido (consulte Advertencias y precauciones). Las muestras no requieren mayor fijación, pero deben incluirse en el compuesto OCT™ (Sakura, Nº de producto Tissue-Tek 4583).


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

El nitrógeno líquido, a causa de su temperatura extremadamente baja, causa quemaduras, por lo que debe ponerse ropa protectora, incluidos guantes y visor, para manipularlo. Úsese en un área bien ventilada.

El isopentano es altamente inflamable, y dañino por ingestión e inhalación. Además, irrita los ojos y la piel, y es narcótico a altas concentraciones.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas, congeladas lo antes posible de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

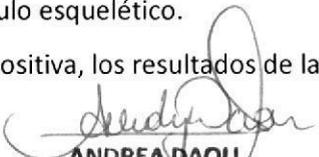
Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2

El tejido de control positivo recomendado es músculo esquelético.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRICOYEN 2789 - FLORIDA 11602
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4751-9921

Página 162 de 205

considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

No se ha evaluado el tejido de control negativo recomendado.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

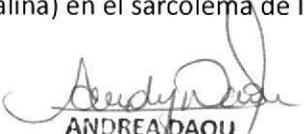
Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-a-SARC al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon Ad1/20A6 detecta la proteína alfa-sarcoglicano (adhalina) en el sarcolema de las fibras musculares


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2780 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

esqueléticas y cardíacas.

Tejidos tumorales

El clon Ad1/20A6 se ha utilizado en estudios inmunohistoquímicos y de inmunoblotting de más de 930 pacientes a fin de identificar una deficiencia de la glicoproteína asociada a la distrofina, que es el alfa-sarcoglicano (50 kD).



NCL-L-a-SARC está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos en inmunohistoquímica para dirigir el análisis de las mutaciones genéticas en el diagnóstico y diferenciación de las distrofias musculares recesivas. En concreto, para identificar la alfa-sarcoglicanopatía (distrofia muscular de las cinturas de las extremidades, de tipo 2D) y la distrofia muscular autosómica recesiva infantil grave (SCARMD, por sus siglas en inglés), en las que pueden producirse mutaciones en el gen que codifica el alfa-sarcoglicano, o expresión defectuosa del alfa-sarcoglicano.

Limitaciones Generales

La inmunohistocitoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

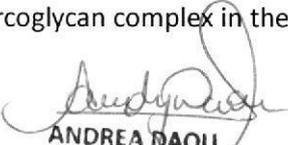
1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
DIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGUYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

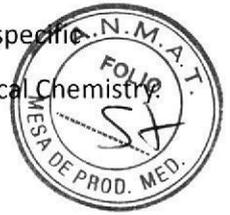
- seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
 4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
 5. Anderson LVB. Multiplex Western blot analysis of the muscular dystrophy proteins. Chapter 22, p369–386, in Muscular Dystrophy: Methods and Protocols (number 43 in the Methods in Molecular Medicine series), edited by Bushby KMD & Anderson LVB. 2001. Humana Press: Totowa, New Jersey.
 6. Pogue R, Anderson LVB, Pyle A et al. Strategy for mutation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. Neuromuscular Disorders. 2001; 11(1):80–87.
 7. Pollitt C, Anderson LVB, Pogue R et al. The phenotype of calpainopathy: diagnosis based on a multidisciplinary approach. Neuromuscular Disorders. 2001; 11(3):287–296
 8. Anderson LVB, Harrison RM, Pogue R et al. Secondary reduction in calpain 3 expression in patients with limb girdle muscular dystrophy type 2B and Miyoshi myopathy (primary dysferlinopathies). Neuromuscular Disorders. 2000; 10(8):553–559.
 9. Auranen M, Rapola J, Pihko H et al. Muscle membrane-skeleton protein changes and histopathological characterization of muscle-eye-brain disease. Neuromuscular Disorders. 2000; 10(1):16–23.
 10. Bornemann A and Anderson LVB. Diagnostic protein expression in human muscle biopsies. Brain Pathology. 2000; 10:193–214.
 11. Vainzof M, Moreira ES, Canovas M et al. Partial alpha-sarcoglycan deficiency with retention of the dystrophin-glycoprotein complex in a LGMD2D family. Muscle Nerve. 2000; 23(6):984–988.
 12. Anderson LVB. Immunomarkers for molecular mass. Neuromuscular Disorders. 1999; 9(6-7):421–422.
 13. Anderson LVB and Davison K. Multiplex Western blotting system for the analysis of muscular dystrophy proteins. American Journal of Pathology. 1999; 154(4):1017–1022.
 14. Weiler T, Bashir R, Anderson LVB et al. Identical mutation in patients with limb girdle muscle dystrophy type 2B or Miyoshi myopathy suggests a role for modifier gene(s). Human Molecular Genetics. 1999; 8(5):871–877.
 15. Drenckhahn D, Holbach M, Ness W et al. Dystrophin and the dystrophin-associated glycoprotein, beta-dystroglycan, co-localize in photoreceptor synaptic complexes of the human retina. Neuroscience 1996; 73(2):605–612.
 16. Sewry CA, Taylor J, Anderson LVB et al. Abnormalities in alpha-, beta- and gamma-sarcoglycan in patients with limb-girdle muscular dystrophy. Neuromuscular Disorders. 1996; 6(6):467–474.
 17. Vainzof M, Passos-Bueno MR, Canovas M et al. The sarcoglycan complex in the six autosomal recessive


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
 BIO-OPTIC S.R.L.
 HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
 VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

limb-girdle muscular dystrophies. Human Molecular Genetics. 1996; 5(12):1963–1969.

18.Roberds SL, Anderson RD, Ibraghimov-Beskrovnaya O et al. Primary structure and muscle-specific expression of the 50-kDa dystrophin-associated glycoprotein (Adhalin). The Journal of Biological Chemistry. 1993; 268: 23739–23742.



Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

20 de junio de 2008

● Metodología inmunohistoquímica para el uso de anticuerpos Novocastra™ con tejido muscular congelado.

Reactivos necesarios que no se suministran

1. Solventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.
2. Solución salina tamponada con Tris 50 mM (TBS), pH 7,6.
3. Diluyente de anticuerpos - suero normal diluido óptimamente en TBS.
4. Sueros normales de la especie en la que se ha producido el anticuerpo secundario.
5. Anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
6. Tetraclorhidrato de 3,3' diaminobenzidina (DAB) - preparado y utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
7. Medio de montaje - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.

Equipo necesario que no se suministra

1. Incubador ajustado a 25 °C.
2. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.
3. Ventilador eléctrico para secar los portaobjetos al aire.

Soluciones de recuperación de antígenos (consulte las Recomendaciones de uso)

No aplicables a secciones congeladas.

Metodología

Antes de poner en práctica esta metodología, los usuarios deben formarse en el uso de las técnicas inmunohistoquímicas.

Los usuarios deben determinar las diluciones óptimas de los anticuerpos. A menos que se indique otra cosa,


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
FOLIO S.R.L.
HIPÓLITO YRIGUEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

todos los pasos se llevan a cabo a 25 °C.

1. Corte y monte secciones de 4-10 µm en portaobjetos revestidos de un adhesivo de tejidos adecuado y seque al aire durante al menos una hora.
2. Incube las secciones con el anticuerpo primario óptimamente diluido (**consulte las Recomendaciones de uso**).
3. Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
4. Incube las secciones en el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa apropiado.
- 5 Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
- 6 Incube los portaobjetos en DAB.
7. Lave los portaobjetos en agua limpia.
8. Deshidrate, aclare y monte las secciones.

Correcciones a la publicación anterior

No aplicable.

Fecha de publicación

5 de febrero de 2004

- *Beta-Sarcoglycan (B-SARC-L-CE)*

Indicaciones De Uso

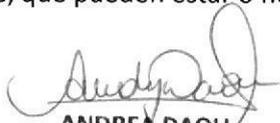
Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-b-SARC está indicado para la identificación cualitativa en secciones congeladas, mediante microscopía óptica, de moléculas de Beta-Sarcoglycan. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



determinado antígeno.

Clon

Bsarc/5B1

Inmunógeno

Proteína de fusión RBSG-NT de la secuencia del beta-sarcoglicano humano.

Especificidad

Beta-sarcoglicano humano (43 kD).

Composición Del Reactivo

NCL-L-b-SARC es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

1,0–8,0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 26 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones congeladas. Dilución sugerida: 1:50–1:200 durante 60 minutos a 25 °C.

Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

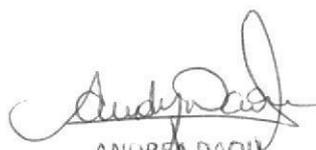
Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

Congele los bloques de tejido en isopentano enfriado en nitrógeno líquido (consulte Advertencias y precauciones). Las muestras no requieren mayor fijación, pero deben incluirse en el compuesto OCT™ (Sakura, N° de producto Tissue-Tek 4583).

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SÓCIO GERENTE


ANDREA DAOU

DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341

LAB. OPTIC S.R.L.

LAB. TOMOGRAFÍA 2789 - FLORIDA (3602)
VICENTE LÓPEZ TEL 4791-9923 / 5435-0175

Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

El nitrógeno líquido, a causa de su temperatura extremadamente baja, causa quemaduras, por lo que debe ponerse ropa protectora, incluidos guantes y visor, para manipularlo. Úsese en un área bien ventilada.

El isopentano es altamente inflamable, y dañino por ingestión e inhalación. Además, irrita los ojos y la piel, y es narcótico a altas concentraciones.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas, congeladas lo antes posible de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

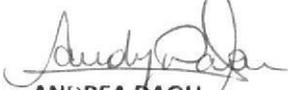
Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2

El tejido de control positivo recomendado es músculo esquelético Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

No se ha evaluado el tejido de control negativo recomendado.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

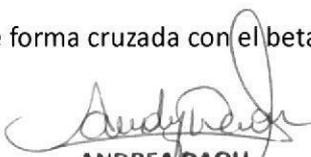
Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-b-SARC al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon bSarc1/5B1 detecta la proteína beta-sarcoglicano en el sarcolema de las fibras musculares esqueléticas, cardíacas y lisas. Además, reacciona de forma cruzada con el beta-sarcoglicano presente en


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
BPO. 1, RIGÜYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

secciones de músculo de ratón, rata, conejo, perro, pollo, hámster y cerdo.

Tejidos tumorales

El clon bSarc1/5B1 se ha utilizado en estudios inmunohistoquímicos y de inmunoblotting de más de 850 pacientes a fin de identificar una deficiencia de la glicoproteína asociada a la distrofina, de 43 kD, que es el beta-sarcoglicano.

NCL-L-b-SARC está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos en inmunohistoquímica para dirigir el análisis de las mutaciones genéticas en el diagnóstico y diferenciación de las distrofias musculares recesivas. En concreto, para identificar la beta-sarcoglicanopatía (distrofia muscular de las cinturas de las extremidades, de tipo 2E), en la que pueden producirse mutaciones en el gen que codifica el beta-sarcoglicano, o expresión defectuosa del beta-sarcoglicano.

Limitaciones Generales

La inmunohistocitoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴ Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Anderson LVB. Multiplex Western blot analysis of the muscular dystrophy proteins. Chapter 22, p369–386, in Muscular Dystrophy: Methods and Protocols (number 43 in the Methods in Molecular Medicine series), edited by Bushby KMD & Anderson LVB. 2001. Humana Press: Totowa, New Jersey.
6. Pogue R, Anderson LVB, Pyle A, et al. Strategy for mutation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. Neuromuscular Disorders. 2001; 11(1):80–87.
7. Auranen M, Rapola J, Pihko H, et al. Muscle membrane-skeleton protein changes and histopathological characterization of muscle-eye-brain disease. Neuromuscular Disorders. 2000; 10(1):16–23.
8. Bornemann A and Anderson LVB. Diagnostic protein expression in human muscle biopsies. Brain Pathology. 2000; 10:193–214.
9. Vainzof M, Moreira ES, Canovas M, et al. Partial alpha-sarcoglycan deficiency with retention of the dystrophin-glycoprotein complex in a LGMD2D family. Muscle Nerve. 2000; 23(6):984–988.
10. Anderson LVB and Davison K. Multiplex Western blotting system for the analysis of muscular dystrophy proteins. American Journal of Pathology. 1999; 154(4):1017–1022.
11. O'Brien DP, Johnson GC, Liu LA, et al. Laminin alpha2 (merosin) –deficient muscular dystrophy and demyelinating neuropathy in two cats. Journal of the Neurological Sciences 2001; 189:37–43.
12. Sheriffs IN, Rampling D and Smith VV. Paraffin wax embedded muscle is suitable for the diagnosis of muscular dystrophy. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54(7):517–520.
13. Ueda H, Ueda K, Baba T, et al. Delta and gamma-sarcoglycan localization in the sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2001; 49:529–538.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

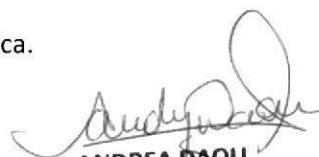
20 de noviembre de 2013

Metodología inmunohistoquímica para el uso de anticuerpos Novocastra™ con tejido muscular congelado.

Reactivos necesarios que no se suministran

1. Solventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
CALLE 2000YEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

2. Solución salina tamponada con Tris 50 mM (TBS), pH 7,6.
3. Diluyente de anticuerpos - suero normal diluido óptimamente en TBS.
4. Sueros normales de la especie en la que se ha producido el anticuerpo secundario.
5. Anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
6. Tetraclorhidrato de 3,3' diaminobenzidina (DAB) - preparado y utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
7. Medio de montaje - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.

Equipo necesario que no se suministra

1. Incubador ajustado a 25 °C.
2. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.
3. Ventilador eléctrico para secar los portaobjetos al aire.

Soluciones de recuperación de antígenos (consulte las Recomendaciones de uso)

No aplicables a secciones congeladas.

Metodología

Antes de poner en práctica esta metodología, los usuarios deben formarse en el uso de las técnicas inmunohistoquímicas.

Los usuarios deben determinar las diluciones óptimas de los anticuerpos. A menos que se indique otra cosa, todos los pasos se llevan a cabo a 25 °C.

1. Corte y monte secciones de 4-10 μm en portaobjetos revestidos de un adhesivo de tejidos adecuado y seque al aire durante al menos una hora.
2. Incube las secciones con el anticuerpo primario óptimamente diluido (**consulte las Recomendaciones de uso**).
3. Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
4. Incube las secciones en el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa apropiado.
- 5 Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
- 6 Incube los portaobjetos en DAB.
7. Lave los portaobjetos en agua limpia.
8. Deshidrate, aclare y monte las secciones.

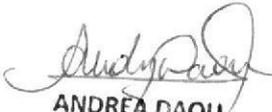
Correcciones a la publicación anterior

No aplicable.

Fecha de publicación

5 de febrero de 2004


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓCITO YRICO YRICO 208 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 9791 5923 / 5435-0175

- *Delta-Sarcoglycan (D-SARC-L-CE)*



Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-d-SARC está indicado para la identificación cualitativa por microscopía óptica de delta-sarcoglicano mediante inmunohistoquímica.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistocitoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

δ Sarc3/12C1

Inmunógeno

Péptido sintético que contiene los aminoácidos 1-19 del extremo aminoterminal de la secuencia del delta-sarcoglicano humano (Jung D. et al., 1996).

Especificidad

Delta-sarcoglicano humano (35 kD). No reacciona con el delta-sarcoglicano presente en secciones de músculo de ratón, rata, conejo, perro, pollo, hámster o cerdo. No se han evaluado otras especies animales.

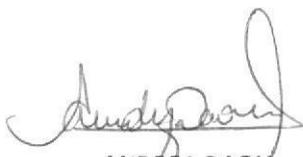
Composición Del Reactivo

NCL-d-SARC es un sobrenadante de cultivo tisular liofilizado que contiene azida sódica como conservante. El usuario debe reconstituir el contenido del vial con el volumen correcto de agua destilada estéril que se indica en la etiqueta del vial.

Clase de Ig

IgG2a


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
CALLE RICAUYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 24 mg/L. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones congeladas. Dilución sugerida: 1:25–1:50 durante 60 minutos a 25 °C. Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacene el anticuerpo sin abrir a una temperatura de 2–8 °C. Bajo estas condiciones, no hay pérdida significativa de la eficacia del producto hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. El anticuerpo reconstituido es estable durante al menos dos meses si se almacena a una temperatura de 2–8 °C. Para el almacenamiento de larga duración, se recomienda almacenar alícuotas del anticuerpo reconstituido congeladas a -20 °C (no se recomiendan los congeladores libres de escarcha ("frost free")). Debe evitar congelar y descongelar repetidamente el producto. Prepare las diluciones de trabajo el día en que las vaya a utilizar. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

Congele los bloques de tejido en isopentano enfriado en nitrógeno líquido (consulte Advertencias y precauciones). Las muestras no requieren mayor fijación, pero deben incluirse en el compuesto OCT™ (Sakura, Nº de producto Tissue-Tek 4583).

Advertencias Y Precauciones

Contiene una mezcla de:

Aziduro De Sodio (<10%), Benzylpenicillin Sodium (<10%), Streptomycin Sulphate (<10%).

Palabras de advertencia: Peligro

H302: Nocivo en caso de ingestión.

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

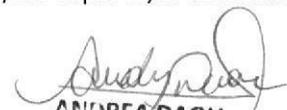
H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
EPI-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOIEN 274 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-0923 / 5435 0175



P264: Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación.

P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P284: [En caso de ventilación insuficiente,] llevar equipo de protección respiratoria.

P301+312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico/si la persona se encuentra mal.

P302+352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P304+340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

P330: Enjuagarse la boca.

P333+313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P342+311: En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico.

P362+364: Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

P391: Recoger el vertido.

P501: Eliminar el contenido/el recipiente en un punto de recogida pública de residuos especiales o peligrosos.

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

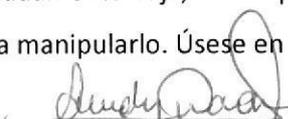
Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

El nitrógeno líquido, a causa de su temperatura extremadamente baja, causa quemaduras, por lo que debe ponerse ropa protectora, incluidos guantes y visor, para manipularlo. Úsese en un área bien ventilada.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
EMP. C. C. EN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

El isopentano es altamente inflamable, y dañino por ingestión e inhalación. Además, irrita los ojos y la piel, y es narcótico a altas concentraciones.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas, congeladas lo antes posible de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es músculo esquelético.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

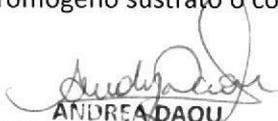
Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

No se ha evaluado el tejido de control negativo recomendado.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRICOYEN 2781 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791 0923 / 5435 0175

(avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.



Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-d-SARC al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon dSarc3/12C1 detecta la proteína delta-sarcoglicano en el sarcolema de las fibras musculares esqueléticas, cardíacas y lisas.

Tejidos tumorales

El clon dSarc3/12C1 se ha utilizado en estudios inmunohistoquímicos de más de 850 pacientes a fin de identificar una deficiencia de la glicoproteína asociada a la distrofina, de 35 kD, que es el delta-sarcoglicano.

NCL-d-SARC está recomendado para la identificación de delta-sarcoglicano humano mediante inmunohistoquímica.

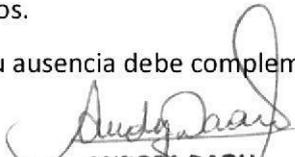
Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido. Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
PRD. OVEICOMEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435 0175

morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

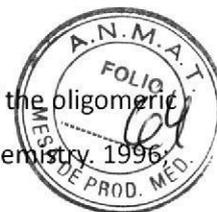
1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Anderson LVB. Multiplex Western blot analysis of the muscular dystrophy proteins. Chapter 22, p369–386, in Muscular Dystrophy: Methods and Protocols (number 43 in the Methods in Molecular Medicine series), edited by Bushby KMD & Anderson LVB. 2001. Humana Press: Totowa, New Jersey.
6. Pogue R, Anderson LVB, Pyle A, et al. Strategy for mutation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. Neuromuscular Disorders. 2001; 11(1):80–87.
7. Sheriffs IN, Rampling D and Smith VV. Paraffin wax embedded muscle is suitable for the diagnosis of muscular dystrophy. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54(7):517–520.
8. Ueda H, Ueda K, Baba T, et al. Delta and gamma-sarcoglycan localization in the sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2001; 49:529–538.
9. Auranen M, Rapola J, Pihko H, et al. Muscle membrane-skeleton protein changes and histopathological characterization of muscle-eye-brain disease. Neuromuscular Disorders. 2000; 10(1):16–23.
10. Bornemann A and Anderson LVB. Diagnostic protein expression in human muscle biopsies. Brain Pathology. 2000; 10:193–214.
11. Vainzof M, Moreira ES, Canovas M, et al. Partial alpha-sarcoglycan deficiency with retention of the dystrophin-glycoprotein complex in a LGMD2D family. Muscle Nerve. 2000; 23(6):984–988.
12. Anderson LVB and Davison K. Multiplex Western blotting system for the analysis of muscular dystrophy


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANREDA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

proteins. American Journal of Pathology. 1999; 154(4):1017–1022.

13. Jung D, Duclos F, Aposol B, et al. Characterization of d-sarcoglycan, a novel component of the oligomeric sarcoglycan complex involved in limb-girdle muscular dystrophy. The Journal of Biological Chemistry. 1996; 271(50):32321–32329.



Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

13 de octubre de 2016

Metodología inmunohistoquímica para el uso de anticuerpos Novocasta™ con tejido muscular congelado.

Reactivos necesarios que no se suministran

1. Solventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.
2. Solución salina tamponada con Tris 50 mM (TBS), pH 7,6.
3. Diluyente de anticuerpos - suero normal diluido óptimamente en TBS.
4. Sueros normales de la especie en la que se ha producido el anticuerpo secundario.
5. Anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
6. Tetraclorhidrato de 3,3' diaminobenzidina (DAB) - preparado y utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
7. Medio de montaje - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.

Equipo necesario que no se suministra

1. Incubador ajustado a 25 °C.
2. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.
3. Ventilador eléctrico para secar los portaobjetos al aire.

Soluciones de recuperación de antígenos (consulte las Recomendaciones de uso)

No aplicables a secciones congeladas.

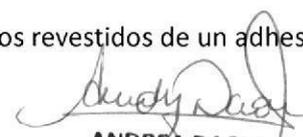
Metodología

Antes de poner en práctica esta metodología, los usuarios deben formarse en el uso de las técnicas inmunohistoquímicas.

Los usuarios deben determinar las diluciones óptimas de los anticuerpos. A menos que se indique otra cosa, todos los pasos se llevan a cabo a 25 °C.

1. Corte y monte secciones de 4-10 µm en portaobjetos revestidos de un adhesivo de tejidos adecuado y


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
C/PO. TO YRIGUYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

seque al aire durante al menos una hora.

2. Incube las secciones con el anticuerpo primario óptimamente diluido (**consulte las Recomendaciones de uso**).

3. Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.

4. Incube las secciones en el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa apropiado.

5 Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.

6 Incube los portaobjetos en DAB.

7. Lave los portaobjetos en agua limpia.

8. Deshidrate, aclare y monte las secciones.

Correcciones a la publicación anterior

No aplicable.

Fecha de publicación

5 de febrero de 2004

- *Dystrophin (Rod Domain) (DYS1-CE)*

Indicaciones De Uso

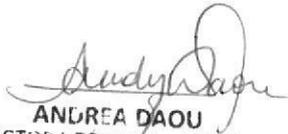
Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-DYS1 está indicado para la identificación cualitativa por microscopía óptica de distrofina (dominio Rod) mediante inmunohistoquímica. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistocitoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS S.L.
HIPOLITO YRIGÖYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Clon

Dy4/6D3



Inmunógeno

Proteína de fusión, bacteriana (Hoffman EP et al., 1987).

Especificidad

Reacciona intensamente con el dominio en forma de varilla (entre los aminoácidos 1181 y 1388) de la distrofina humana. Además, reacciona con la distrofina de músculo esquelético, cardíaco y liso de ratón, rata, conejo, perro, hámster y cerdo normales. No se observó reactividad alguna con tejido de ratón mdx en pacientes aquejados de DMD (distrofia muscular de Duchenne) / BMD (distrofia muscular de Becker) que tienen una delección génica (pérdida de segmentos de un gen) que elimina el lugar de unión del anticuerpo. No se observa reacción alguna con distrofina de pollo.

Composición Del Reactivo

NCL-DYS1 es un sobrenadante de cultivo tisular liofilizado que contiene azida sódica como conservante. El usuario debe reconstituir el contenido del vial con el volumen correcto de agua destilada estéril que se indica en la etiqueta del vial.

Clase de Ig

IgG2a

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 46 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

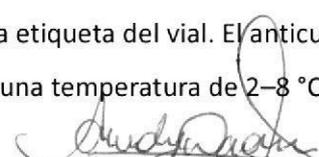
Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones congeladas. Dilución sugerida: 1:20 durante 60 minutos a 25 °C. Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacene el anticuerpo sin abrir a una temperatura de 2–8 °C. Bajo estas condiciones, no hay pérdida significativa de la eficacia del producto hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. El anticuerpo reconstituido es estable durante al menos dos meses si se almacena a una temperatura de 2–8 °C. Para el almacenamiento


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435

de larga duración, se recomienda almacenar alícuotas del anticuerpo reconstituido congeladas a -20 °C (no se recomiendan los congeladores libres de escarcha ("frost free")). Debe evitar congelar y descongelar repetidamente el producto. Prepare las diluciones de trabajo el día en que las vaya a utilizar. Devuélvalo a 2-8 °C inmediatamente después de su uso. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

Congele los bloques de tejido en isopentano enfriado en nitrógeno líquido (consulte Advertencias y precauciones). Las muestras no requieren mayor fijación, pero deben incluirse en el compuesto OCT™ (Sakura, Nº de producto Tissue-Tek 4583).

Advertencias Y Precauciones

Contiene una mezcla de: Aziduro De Sodio (<10%), Benzylpenicillin Sodium (<10%), Streptomycin Sulphate (<10%).

Palabras de advertencia: Peligro

H302: Nocivo en caso de ingestión.

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

P264: Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación.

P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P284: [En caso de ventilación insuficiente,] llevar equipo de protección respiratoria.

P301+312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico/si la persona se encuentra mal.

P302+352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P304+340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

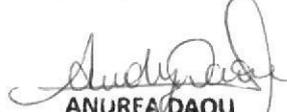
P330: Enjuagarse la boca.

P333+313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P342+311: En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico.

P362+364: Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2787 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-0923 / 5435-0175

P391: Recoger el vertido.

P501: Eliminar el contenido/el recipiente en un punto de recogida pública de residuos especiales o peligrosos.



Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

El nitrógeno líquido, a causa de su temperatura extremadamente baja, causa quemaduras, por lo que debe ponerse ropa protectora, incluidos guantes y visor, para manipularlo. Úsese en un área bien ventilada.

El isopentano es altamente inflamable, y dañino por ingestión e inhalación. Además, irrita los ojos y la piel, y es narcótico a altas concentraciones.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

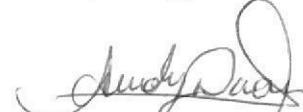
Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas, congeladas lo antes posible de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.2


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

El tejido de control positivo recomendado es músculo estriado normal humano.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

No se ha evaluado el tejido de control negativo recomendado.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-DYS1 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2780 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-0923 / 5435-0175



Resultados esperados

Tejidos normales

El clon Dy4/6D3 detecta un epítipo presente en el dominio central en forma de varilla de la distrofina humana, cerca del lado citoplásmico del sarcolema de músculo normal humano.

Tejidos tumorales

El clon Dy4/6D3 se ha utilizado en estudios inmunohistoquímicos y de inmunoblotting de más de 860 pacientes a fin de identificar una deficiencia de la proteína distrofina (427 kD).

NCL-DYS1 está recomendado para la identificación de distrofina humana (dominio Rod) mediante inmunohistoquímica.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

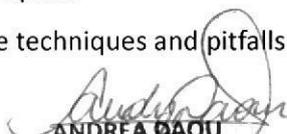
Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983;

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-1175

Página 186 de 205

14:767.

4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Anderson LVB. Multiplex Western blot analysis of the muscular dystrophy proteins. Chapter 22, p369–386, in *Muscular Dystrophy: Methods and Protocols* (number 43 in the *Methods in Molecular Medicine* series), edited by Bushby KMD & Anderson LVB. 2001. Humana Press: Totowa, New Jersey.
6. Pogue R, Anderson LVB, Pyle A, et al. Strategy for mutation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Neuromuscular Disorders*. 2001; 11(1):80–87.
7. Pollitt C, Anderson LVB, Pogue R, et al. The phenotype of calpainopathy: diagnosis based on a multidisciplinary approach. *Neuromuscular Disorders*. 2001; 11(3):287–296.
8. Anderson LVB, Harrison RM, Pogue R, et al. Secondary reduction in calpain 3 expression in patients with limb girdle muscular dystrophy type 2B and Miyoshi myopathy (primary dysferlinopathies). *Neuromuscular Disorders*. 2000; 10(8):553–559.
9. Auranen M, Rapola J, Pihko H, et al. Muscle membrane-skeleton protein changes and histopathological characterization of muscle-eye-brain disease. *Neuromuscular Disorders*. 2000; 10(1):16–23.
10. Bornemann A and Anderson LVB. Diagnostic protein expression in human muscle biopsies. *Brain Pathology*. 2000; 10:193–214.
11. Ginjaar IB, Kneppers AL, v d Meulen JD, et al. Dystrophin nonsense mutation induces different levels of exon 29 skipping and leads to variable phenotypes within one BMD family. *European Journal of Human Genetics*. 2000; 8(10):793–796.
12. Anderson LVB. Immunomarkers for molecular mass. *Neuromuscular Disorders*. 1999; 9(6-7):421–422.
13. Anderson LVB and Davison K. Multiplex Western blotting system for the analysis of muscular dystrophy proteins. *American Journal of Pathology*. 1999; 154(4):1017–1022.
14. Anderson LVB, Davison K, Moss JA, et al. Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development. *Human Molecular Genetics*. 1999; 8(5):855–861.
15. Matthews PM, Benjamin D, Bakel IV, et al. Muscle X-inactivation patterns and dystrophin expression in Duchenne muscular dystrophy carriers. *Neuromuscular Disorders*. 1995; 5(3):209–220.
16. Heald A, Anderson LVB, Bushby KMD, et al. Becker muscular dystrophy with onset after 60 years. *Neurology*. 1994; 44:2388–2390.
17. Bushby KMD, Goodship JA, Nicholson LVB, et al. Variability in clinical, genetic and protein abnormalities in manifesting carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*. 1993; 3(1):57–64.
18. Nicholson LVB. The “rescue” of dystrophin synthesis in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*. 1993; 3(5/6):525–531.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANUREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

19. Nicholson LVB, Johnson MA, Bushby KMD, et al. Functional significance of dystrophin positive fibres in Duchenne muscular dystrophy. Archives of Disease in Childhood. 1993; 68:632–636.

20. Nicholson LVB, Johnson MA, Bushby KMD, et al. Integrated study of 100 patients with Xp21 linked muscular dystrophy using clinical, genetic, immunochemical, and histopathological data. Part 1. Trends across the clinical groups. Journal of Medical Genetics. 1993; 30:728–736.

21. Hoffman EP, Brown RH Jr, and Kunkell LM. Dystrophin the protein of the Duchenne muscular dystrophy locus. Cell. 1987; 51(6):919–928.



Correcciones A La Publicación Anterior

Indicaciones De Uso, Advertencias Y Precauciones, Resultados esperados.

Fecha De Publicación

13 de octubre de 2016

Metodología inmunohistoquímica para el uso de anticuerpos Novocastra™ con tejido muscular congelado.

Reactivos necesarios que no se suministran

1. Solventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.
2. Solución salina tamponada con Tris 50 mM (TBS), pH 7,6.
3. Diluyente de anticuerpos - suero normal diluido óptimamente en TBS.
4. Sueros normales de la especie en la que se ha producido el anticuerpo secundario.
5. Anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
6. Tetraclorhidrato de 3,3' diaminobenzidina (DAB) - preparado y utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
7. Medio de montaje - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.

Equipo necesario que no se suministra

1. Incubador ajustado a 25 °C.
2. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.
3. Ventilador eléctrico para secar los portaobjetos al aire.

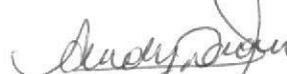
Soluciones de recuperación de antígenos (consulte las Recomendaciones de uso)

No aplicables a secciones congeladas.

Metodología

Antes de poner en práctica esta metodología, los usuarios deben formarse en el uso de las técnicas


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

inmunohistoquímicas.

Los usuarios deben determinar las diluciones óptimas de los anticuerpos. A menos que se indique otra cosa, todos los pasos se llevan a cabo a 25 °C.

1. Corte y monte secciones de 4-10 µm en portaobjetos revestidos de un adhesivo de tejidos adecuado y seque al aire durante al menos una hora.
2. Incube las secciones con el anticuerpo primario óptimamente diluido (**consulte las Recomendaciones de uso**).
3. Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
4. Incube las secciones en el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa apropiado.
- 5 Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
- 6 Incube los portaobjetos en DAB.
7. Lave los portaobjetos en agua limpia.
8. Deshidrate, aclare y monte las secciones.

Correcciones a la publicación anterior

No aplicable.

Fecha de publicación

5 de febrero de 2004

- *Dystrophin (C-Terminus) (DYS2-CE)*

Indicaciones De Uso

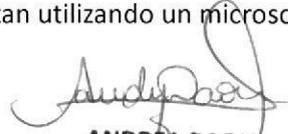
Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-DYS2 está indicado para la identificación cualitativa por microscopía óptica de distrofina (terminal C) mediante inmunohistoquímica. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistocitoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORES (3602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 4



en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

Dy8/6C5

Inmunógeno

Polipéptido sintético que consta de los últimos 17 aminoácidos del extremo carboxiterminal de la secuencia de la distrofina humana.

Especificidad

Reacciona intensamente con el extremo carboxiterminal (entre los aminoácidos 3669 y 3685) de la distrofina humana. Además, reacciona intensamente de forma cruzada con la distrofina de músculo esquelético, cardíaco y liso de ratón, rata, conejo, perro, pollo y hámster. No presenta reactividad cruzada con el tejido de ratón mdx. Reacciona de forma cruzada muy débilmente con la distrofina de cerdo.

Composición Del Reactivo

NCL-DYS2 es un sobrenadante de cultivo tisular liofilizado que contiene azida sódica 15 mM como conservante. El usuario debe reconstituir el contenido del vial con el volumen correcto de agua destilada estéril que se indica en la etiqueta del vial.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 32,4 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones congeladas. Dilución sugerida: 1:20 durante 60 minutos a 25 °C. Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacene el anticuerpo sin abrir a una temperatura de 2–8 °C. Bajo estas condiciones, no hay pérdida significativa de la eficacia del producto hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. No lo

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
EMPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. El anticuerpo reconstituido es estable durante al menos dos meses si se almacena a una temperatura de 2–8 °C. Para el almacenamiento de larga duración, se recomienda almacenar alícuotas del anticuerpo reconstituido congeladas a -20 °C (no se recomiendan los congeladores libres de escarcha ("frost free")). Debe evitar congelar y descongelar repetidamente el producto. Prepare las diluciones de trabajo el día en que las vaya a utilizar. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

Congele los bloques de tejido en isopentano enfriado en nitrógeno líquido (consulte Advertencias y precauciones). Las muestras no requieren mayor fijación, pero deben incluirse en el compuesto OCT™ (Sakura, Nº de producto Tissue-Tek 4583).

Advertencias Y Precauciones

Contiene una mezcla de: Aziduro De Sodio (<10%), Benzylpenicillin Sodium (<10%), Streptomycin Sulphate (<10%).

Palabras de advertencia: Peligro H302: Nocivo en caso de ingestión.

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

P264: Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación.

P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P284: [En caso de ventilación insuficiente,] llevar equipo de protección respiratoria.

P301+312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico/si la persona se encuentra mal.

P302+352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P304+340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

P330: Enjuagarse la boca.

P333+313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P342+311: En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



P362+364: Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

P391: Recoger el vertido.

P501: Eliminar el contenido/el recipiente en un punto de recogida pública de residuos especiales o peligrosos.

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas. 1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

El nitrógeno líquido, a causa de su temperatura extremadamente baja, causa quemaduras, por lo que debe ponerse ropa protectora, incluidos guantes y visor, para manipularlo. Úsese en un área bien ventilada.

El isopentano es altamente inflamable, y dañino por ingestión e inhalación. Además, irrita los ojos y la piel, y es narcótico a altas concentraciones.

Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas, congeladas lo antes posible de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de

degradación del reactivo.2

El tejido de control positivo recomendado es músculo estriado normal humano. Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

No se ha evaluado el tejido de control negativo recomendado.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.3 También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

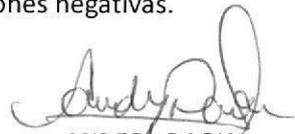
Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-DYS2 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



Resultados esperados

Tejidos normales

El clon Dy8/6C5 detecta un epítipo presente en el extremo carboxiterminal de la distrofina humana, cerca del lado citoplásmico del sarcolema de músculo normal humano.

Tejidos tumorales

El clon Dy8/6C5 se ha utilizado en estudios inmunohistoquímicos y de inmunoblotting de más de 965 pacientes a fin de identificar una deficiencia de la proteína distrofina (427 kD).

NCL-DYS2 está recomendado para la identificación de distrofina humana (terminal C) mediante inmunohistoquímica.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

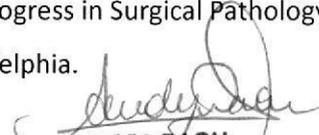
La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.

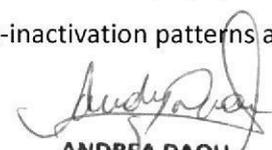
Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
FRPOL TO YRIGOVEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435 4175

Página 194 de 205

3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Anderson LVB. Multiplex Western blot analysis of the muscular dystrophy proteins. Chapter 22, p369–386, in *Muscular Dystrophy: Methods and Protocols* (number 43 in the *Methods in Molecular Medicine* series), edited by Bushby KMD & Anderson LVB. 2001. Humana Press: Totowa, New Jersey.
6. Mahjneh I, Marconi G, Bushby K, et al. Dysferlinopathy (LGMD2B): a 23-year follow-up study of 10 patients homozygous for the same frameshifting dysferlin mutations. *Neuromuscular Disorders*. 2001; 11:20–26.
7. Pogue R, Anderson LVB, Pyle A, et al. Strategy for mutation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Neuromuscular Disorders*. 2001; 11(1):80–87.
8. Pollitt C, Anderson LVB, Pogue R, et al. The phenotype of calpainopathy: diagnosis based on a multidisciplinary approach. *Neuromuscular Disorders*. 2001; 11(3):287–296.
9. Anderson LVB, Harrison RM, Pogue R, et al. Secondary reduction in calpain 3 expression in patients with limb girdle muscular dystrophy type 2B and Miyoshi myopathy (primary dysferlinopathies). *Neuromuscular Disorders*. 2000; 10(8):553–559.
10. Auranen M, Rapola J, Pihko H, et al. Muscle membrane-skeleton protein changes and histopathological characterization of muscle-eye-brain disease. *Neuromuscular Disorders*. 2000; 10(1):16–23.
11. Bornemann A and Anderson LVB. Diagnostic protein expression in human muscle biopsies. *Brain Pathology*. 2000; 10:193–214.
12. Anderson LVB. Immunomarkers for molecular mass. *Neuromuscular Disorders*. 1999; 9(6-7):421–422.
13. Anderson LVB and Davison K. Multiplex Western blotting system for the analysis of muscular dystrophy proteins. *American Journal of Pathology*. 1999; 154(4):1017–1022.
14. Anderson LVB, Davison K, Moss JA, et al. Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development. *Human Molecular Genetics*. 1999; 8(5):855–861.
15. Weiler T, Bashir R, Anderson LVB, et al. Identical mutation in patients with limb girdle muscle dystrophy type 2B or Miyoshi myopathy suggests a role for modifier gene(s). *Human Molecular Genetics*. 1999; 8(5):871–877.
16. Sewry CA, Taylor J, Anderson LVB, et al. Abnormalities in alpha-, beta- and gamma-sarcoglycan in patients with limb-girdle muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*. 1996; 6(6):467–474.
17. Vainzof M, Passos-Bueno MR, Canovas M, et al. The sarcoglycan complex in the six autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Human Molecular Genetics*. 1996; 5(12):1963–1969.
18. Matthews PM, Benjamin D, Bakel IV, et al. Muscle X-inactivation patterns and dystrophin expression in


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
 BIO-OPTIC S.R.L.
 HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
 VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



Duchenne muscular dystrophy carriers. Neuromuscular Disorders. 1995; 5(3):209–220.

19. Heald A, Anderson LVB, Bushby KMD, et al. Becker muscular dystrophy with onset after 60 years. Neurology. 1994; 44:2388–2390.

20. Bushby KMD, Goodship JA, Nicholson LVB, et al. Variability in clinical, genetic and protein abnormalities in manifesting carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy. Neuromuscular Disorders. 1993; 3(1):57–64.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

12 de octubre de 2016

Metodología inmunohistoquímica para el uso de anticuerpos Novocastra™ con tejido muscular congelado.

Reactivos necesarios que no se suministran

1. Solventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.
2. Solución salina tamponada con Tris 50 mM (TBS), pH 7,6.
3. Diluyente de anticuerpos - suero normal diluido óptimamente en TBS.
4. Sueros normales de la especie en la que se ha producido el anticuerpo secundario.
5. Anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
6. Tetraclorhidrato de 3,3' diaminobenzidina (DAB) - preparado y utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
7. Medio de montaje - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.

Equipo necesario que no se suministra

1. Incubador ajustado a 25 °C.
2. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.
3. Ventilador eléctrico para secar los portaobjetos al aire.

Soluciones de recuperación de antígenos (consulte las Recomendaciones de uso)

No aplicables a secciones congeladas.

Metodología

Antes de poner en práctica esta metodología, los usuarios deben formarse en el uso de las técnicas inmunohistoquímicas.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO OPTIC S.R.L.
PARRISITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Los usuarios deben determinar las diluciones óptimas de los anticuerpos. A menos que se indique otra cosa, todos los pasos se llevan a cabo a 25 °C.

1. Corte y monte secciones de 4-10 μm en portaobjetos revestidos de un adhesivo de tejidos adecuado y seque al aire durante al menos una hora.
2. Incube las secciones con el anticuerpo primario óptimamente diluido (**consulte las Recomendaciones de uso**).
3. Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
4. Incube las secciones en el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa apropiado.
- 5 Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.
- 6 Incube los portaobjetos en DAB.
7. Lave los portaobjetos en agua limpia.
8. Deshidrate, aclare y monte las secciones.

Correcciones a la publicación anterior

No aplicable.

Fecha de publicación

5 de febrero de 2004

- *Dystrophin (N-Terminus) (DYS3-CE)*

Indicaciones De Uso

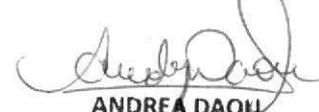
Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-DYS3 está indicado para la identificación cualitativa por microscopía óptica de distrofina (terminal N) mediante inmunohistoquímica. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistocitoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

determinado antígeno.

Clon

Dy10/12B2



Inmunógeno

Proteína de fusión que contiene los aminoácidos 67 a 713.

Especificidad

Reacciona intensamente con el dominio aminoterminal (entre los aminoácidos 321 y 494) de la distrofina humana. La inmunorreactividad que se observa en los pacientes indica que el epítipo está cerca de los exones 10 a 12. El mapeado del epítipo sugiere que las secuencias de los aminoácidos 308 a 351 están implicadas en la unión al anticuerpo. Esta región abarca la unión de los exones 9 y 10, y es posible que el epítipo reconocido sea parte de una región bisagra que une el dominio aminoterminal al dominio central en forma de varilla. No se observa reactividad con las muestras de pacientes aquejados de DMD (distrofia muscular de Duchenne) / BMD (distrofia muscular de Becker), en quienes los exones 10 a 12 se han perdido (delección génica). No se observa reacción cruzada alguna con distrofina de ratón (únicamente alta tinción de fondo), rata, conejo, perro, pollo, hámster y cerdo.

Composición Del Reactivo

NCL-DYS3 es un sobrenadante de cultivo tisular liofilizado que contiene azida sódica como conservante. El usuario debe reconstituir el contenido del vial con el volumen correcto de agua destilada estéril que se indica en la etiqueta del vial.

Clase de Ig

IgG2a

Concentración Total De Proteína

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

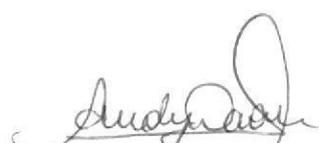
Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 4 mg/L. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones congeladas. Dilución sugerida: de sin diluir-1:20 durante 60 minutos a 25 °C. Ésta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
CAROL TO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Almacenamiento Y Estabilidad

Almacene el anticuerpo sin abrir a una temperatura de 2–8 °C. Bajo estas condiciones, no hay pérdida significativa de la eficacia del producto hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. El anticuerpo reconstituido es estable durante al menos dos meses si se almacena a una temperatura de 2–8 °C. Para el almacenamiento de larga duración, se recomienda almacenar alícuotas del anticuerpo reconstituido congeladas a -20 °C (no se recomiendan los congeladores libres de escarcha (“frost free”). Debe evitar congelar y descongelar repetidamente el producto. Prepare las diluciones de trabajo el día en que las vaya a utilizar. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación De Las Muestras

Congele los bloques de tejido en isopentano enfriado en nitrógeno líquido (consulte Advertencias y precauciones). Las muestras no requieren mayor fijación, pero deben incluirse en el compuesto OCT™ (Sakura, Nº de producto Tissue-Tek 4583).

Advertencias Y Precauciones

Contiene una mezcla de: Aziduro De Sodio (<10%), Benzylpenicillin Sodium (<10%), Streptomycin Sulphate (<10%). Palabras de advertencia: Peligro

H302: Nocivo en caso de ingestión.

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

P264: Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación.

P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

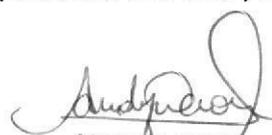
P284: [En caso de ventilación insuficiente,] llevar equipo de protección respiratoria.

P301+312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico/si la persona se encuentra mal.

P302+352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P304+340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



P330: Enjuagarse la boca.

P333+313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P342+311: En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGIA/médico.

P362+364: Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

P391: Recoger el vertido.

P501: Eliminar el contenido/el recipiente en un punto de recogida pública de residuos especiales o peligrosos.

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.1 No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

El nitrógeno líquido, a causa de su temperatura extremadamente baja, causa quemaduras, por lo que debe ponerse ropa protectora, incluidos guantes y visor, para manipularlo. Úse en un área bien ventilada.

El isopentano es altamente inflamable, y dañino por ingestión e inhalación. Además, irrita los ojos y la piel, y es narcótico a altas concentraciones.

Control De Calidad

Las diferencias en la manipulación de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente sus propios controles además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas, congeladas lo antes posible de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓCRITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VIALBA, LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Página 200 de 205

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es músculo estriado normal humano.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

No se ha evaluado el tejido de control negativo recomendado.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

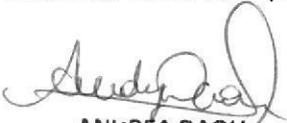
Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-DYS3 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.



Resultados esperados

Tejidos normales

El clon Dy10/12B2 detecta un epítipo presente en el dominio aminoterminal de la distrofina humana, cerca del lado citoplásmico del sarcolema de músculo normal humano.

Tejidos tumorales

El clon Dy10/12B2 se ha utilizado en estudios inmunohistoquímicos y de inmunoblotting de más de 900 pacientes a fin de identificar una deficiencia de la proteína distrofina (427 kD).

NCL-DYS3 está recomendado para la identificación de distrofina humana (terminal N) mediante inmunohistoquímica.

Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

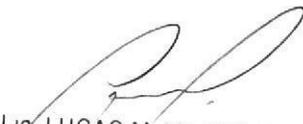
Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

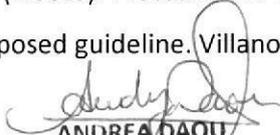
La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

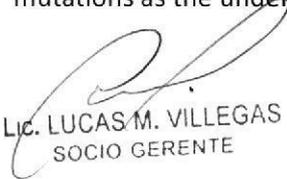
1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order

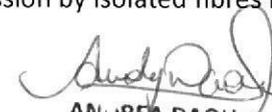

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
CARRILLO BRIGUYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

code M29-P.

2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Pogue R, Anderson LVB, Pyle A, et al. Strategy for mutation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Neuromuscular Disorders*. 2001; 11(1):80–87.
6. Auranen M, Rapola J, Pihko H, et al. Muscle membrane-skeleton protein changes and histopathological characterization of muscle-eye-brain disease. *Neuromuscular Disorders*. 2000; 10(1):16–23.
7. Bornemann A and Anderson LVB. Diagnostic protein expression in human muscle biopsies. *Brain Pathology*. 2000; 10:193–214.
8. Drenckhahn D, Holbach M, Ness W, et al. Dystrophin and the dystrophin-associated glycoprotein, beta-dystroglycan, co-localize in photoreceptor synaptic complexes of the human retina. *Neuroscience* 1996; 73(2):605–612.
9. Sewry CA, Taylor J, Anderson LVB, et al. Abnormalities in alpha-, beta- and gamma-sarcoglycan in patients with limb-girdle muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*. 1996; 6(6):467–474.
10. Matthews PM, Benjamin D, Bakel IV, et al. Muscle X-inactivation patterns and dystrophin expression in Duchenne muscular dystrophy carriers. *Neuromuscular Disorders*. 1995; 5(3):209–220.
11. Nicholson LVB, Johnson MA, Bushby KMD, et al. Integrated study of 100 patients with Xp21 linked muscular dystrophy using clinical, genetic, immunochemical, and histopathological data. Part 1. Trends across the clinical groups. *Journal of Medical Genetics*. 1993; 30:728–736.
12. Nicholson LVB, Johnson MA, Bushby KMD, et al. Integrated study of 100 patients with Xp21 linked muscular dystrophy using clinical, genetic, immunochemical, and histopathological data. Part 2. Correlations within individual patients. *Journal of Medical Genetics*. 1993; 30:737–744.
13. Nicholson LVB, Johnson MA, Bushby KMD, et al. Integrated study of 100 patients with Xp21 linked muscular dystrophy using clinical, genetic, immunochemical, and histopathological data. Part 3. Differential diagnosis and prognosis. *Journal of Medical Genetics*. 1993; 30:745–751.
14. Vainzof M, Nicholson LVB, Bulman DE, et al. Sarcolemmal distribution of abnormal dystrophin in Xp21 carriers. *Neuromuscular Disorders*. 1993; 3(2):135–140.
15. Wallgren-Pettersson C, Jasani B, Rosser LG, et al. Immunohistological evidence for second or somatic mutations as the underlying cause of dystrophin expression by isolated fibres in Xp21 muscular dystrophy of


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANUREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGROYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-1177



Duchenne-type severity. Journal of the Neurological Sciences. 1993; 118:56–63.

16. Nicholson LVB, Johnson MA, Davison K, et al. Dystrophin or a "related protein" in Duchenne muscular dystrophy? Acta Neurol. Scand. 1992; 86:8–14.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

14 de octubre de 2016

Metodología inmunohistoquímica para el uso de anticuerpos Novocastra™ con tejido muscular congelado.

Reactivos necesarios que no se suministran

1. Solventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.
2. Solución salina tamponada con Tris 50 mM (TBS), pH 7,6.
3. Diluyente de anticuerpos - suero normal diluido óptimamente en TBS.
4. Sueros normales de la especie en la que se ha producido el anticuerpo secundario.
5. Anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
6. Tetraclorhidrato de 3,3' diaminobenzidina (DAB) - preparado y utilizado de la forma recomendada por el fabricante.
7. Medio de montaje - utilizado de la forma recomendada por el fabricante.

Equipo necesario que no se suministra

1. Incubador ajustado a 25 °C.
2. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.
3. Ventilador eléctrico para secar los portaobjetos al aire.

Soluciones de recuperación de antígenos (consulte las Recomendaciones de uso)

No aplicables a secciones congeladas.

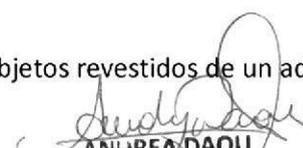
Metodología

Antes de poner en práctica esta metodología, los usuarios deben formarse en el uso de las técnicas inmunohistoquímicas.

Los usuarios deben determinar las diluciones óptimas de los anticuerpos. A menos que se indique otra cosa, todos los pasos se llevan a cabo a 25 °C.

1. Corte y monte secciones de 4-10 μ m en portaobjetos revestidos de un adhesivo de tejidos adecuado y


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓCEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICEPRESIDENTE - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

seque al aire durante al menos una hora.

2. Incube las secciones con el anticuerpo primario óptimamente diluido (**consulte las Recomendaciones de uso**).

3. Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.

4. Incube las secciones en el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa apropiado.

5 Lave en tampón TBS durante 2 x 5 minutos con sacudimiento suave.

6 Incube los portaobjetos en DAB.

7. Lave los portaobjetos en agua limpia.

8. Deshidrate, aclare y monte las secciones.

Correcciones a la publicación anterior

No aplicable.

Fecha de publicación

5 de febrero de 2004



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: 1-47-3110-4465-17-7

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 122 pagina/s.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas,
Regulación e Institutos
A.N.M.A.T.

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-3110-4465/17-7

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por la BIO-OPTIC S.R.L.. se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto para diagnóstico de uso in vitro con los siguientes datos característicos:

Nombre comercial: : **1) NCL-L-a-SARC; 2) NCL-L-b-SARC; 3) NCL-L-CD117; 4) NCL-L-CD3-565; 5) NCL-L-CD68; 6) NCL-L-CD99-187; 7) NCL-L-DOG-1; 8) NCL-D-SARC; 9) NCL-DYS1; 10) NCL-DYS2; 11) NCL-DYS3; 12) NCL-L-EGFR; 13) NCL-L-EMA; 14) NCL-L-END; 15) NCL-L-HMB45; 16) NCL-L-KAP-581 Y 17) NCL-L-LAM-578.**

Indicación de uso: ANTICUERPOS MONOCLONALES DISEÑADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA EN SECCIONES DE PARAFINA, MEDIANTE MICROSCOPIA OPTICA DE DIFERENTES ANTÍGENOS HUMANOS, RELACIONADOS CON DERMATOPATOLOGÍAS Y ENFERMEDADES EN TEJIDO BLANDO.

Forma de presentación: 1) a 8) y 12 a 17) ENVASES CONTENIENDO: 1 vial x 1.0 ml, 9) a 11) ENVASES CONTENIENDO: 1 vial x 2.5 ml.

Período de vida útil y condición de conservación: 1), 2) y 8) a 11) 12 meses, conservado a 2 y 8°C; 3), 5), 12) a 14), 16) y 17) 36 meses, conservado a 2 y 8°C; 4) 37 meses, conservado a 2 y 8°C; 6) y 15) 30 meses, conservado a 2 y 8°C; 7) 33 meses, conservado a 2 y 8°C.

Condición de venta: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Nombre y dirección del fabricante: LEICA BIOSYSTEMS NEWCASTLE, Balliol Business Park West, Newcastle upon Tyne, NE12 8EW. (REINO UNIDO) .

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-2234-006.

Disposición Nº **001667**

21 FEB 2018

DR. ROBERTO LERRE
Subadministrador
