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

Disposición

Número: DI-2018-254-APN-ANMAT#MSYDS

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Miércoles 19 de Septiembre de 2018

Referencia: 1-47-3110-5167/17-4

VISTO el expediente N° 1-47-3110-5167/17-4 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Medica 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) **CALCITONIN (CALCITONIN-L-CE); 2) CALRETININ (CALRET566-L-CE); 3) CD123 (CD123-L-CE); 4) CYTOKERATIN 7 (CK7-OVTL-L-CE); 5) DESMIN (DES-DERII-L-CE); 6) GRANZYME B (GRAN-B-L-CE); 7) Ki67 ANTIGEN (KI67-MM1-L-CE); 8) MELAN A (MELANA-L-CE); 9) MESOTHELIN (MESO-L-CE); 10) MUSCLE SPECIFIC ACTIN (MSA-594-L-CE); 11) MYOGENIN (MYF-4-L-CE); 12) PROTEIN GENE PRODUCT 9.5 (PGP9.5-L-CE); 13) THYROID TRANSCRIPTION FACTOR-1 (TTF-1-L-CE); y 14) CYTOKERATIN MULTI (AE1/AE3-601-L-CE).**

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

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1°.- Autorizase 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) CALCITONIN (CALCITONIN-L-CE); 2) CALRETININ (CALRET566-L-CE); 3) CD123 (CD123-L-CE); 4) CYTOKERATIN 7 (CK7-OVTL-L-CE); 5) DESMIN (DES-DERII-L-CE); 6) GRANZYME B (GRAN-B-L-CE); 7) Ki67 ANTIGEN (KI67-MM1-L-CE); 8) MELAN A (MELANA-L-CE); 9) MESOTHELIN (MESO-L-CE); 10) MUSCLE SPECIFIC ACTIN (MSA-594-L-CE); 11) MYOGENIN (MYF-4-L-CE); 12) PROTEIN GENE PRODUCT 9.5 (PGP9.5-L-CE); 13) THYROID TRANSCRIPTION FACTOR-1 (TTF-1-L-CE); y 14) CYTOKERATIN MULTI (AE1/AE3-601-L-CE)**, 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 2°.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2018-38766892-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM-2234-12", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5°.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos deTecnología 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 4°. 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) CALCITONIN (CALCITONIN-L-CE); 2) CALRETININ (CALRET566-L-CE); 3) CD123 (CD123-L-CE); 4) CYTOKERATIN 7 (CK7-OVTL-L-CE); 5) DESMIN (DES-DERII-L-CE); 6) GRANZYME B (GRAN-B-L-CE); 7) Ki67 ANTIGEN (KI67-MM1-L-CE); 8) MELAN A (MELANA-L-CE); 9) MESOTHELIN (MESO-L-CE); 10) MUSCLE SPECIFIC ACTIN (MSA-594-L-CE); 11) MYOGENIN (MYF-4-L-CE); 12) PROTEIN GENE PRODUCT 9.5 (PGP9.5-L-CE); 13) THYROID TRANSCRIPTION FACTOR-1 (TTF-1-L-CE); y 14) CYTOKERATIN MULTI (AE1/AE3-601-L-CE).**

Indicación de uso: ANTICUERPOS MONOCLONALES DISEÑADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DIFERENTES ANTÍGENOS HUMANOS MEDIANTE LAS TÉCNICAS DE TINCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICAS.

Forma de presentación: ENVASES CONTENIENDO: 1 vial x 1.0 ml.

Período de vida útil y condición de conservación: **1), 3), 6) a 12) y 14)** 36 meses, conservado a 2 y 8°C; **4) y 5)** 24 meses, conservado a 2 y 8°C; **2)** 33 meses, conservado a 2 y 8°C y **13)** 18 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° 1-47-3110-5167/17-4

av

Digitally signed by CHIALE Carlos Alberto
Date: 2018.09.19 18:35:06 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Carlos Alberto Chiale
Administrador
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica
Ministerio de Salud y Desarrollo Social

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2018.09.19 18:35:14 -03'00'

RÓTULOS

A los rótulos originales se le agregará lo siguiente:

Establecimiento importador:

BIO-OPTIC S.R.L. Excelencia tecnológica y calidad de servicios

Bio-Optic SRL

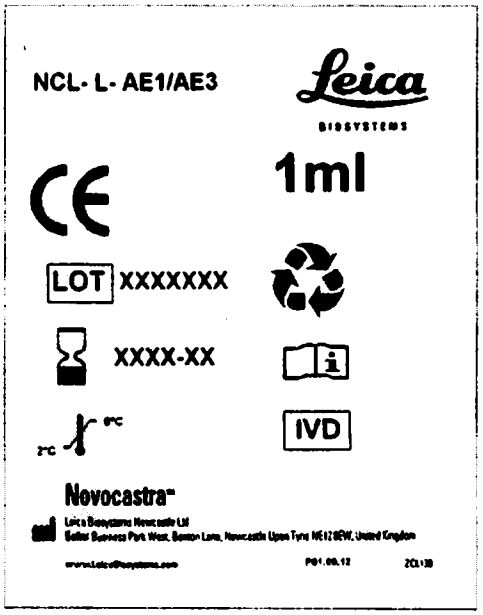
Hipólito Yrigoyen 2789
Florida, Buenos Aires, Argentina.
Director Técnico: Farm. Silvana Andrea Daou MP 19341
Tel.: (011) 4791-9923

Autorizado por ANMAT

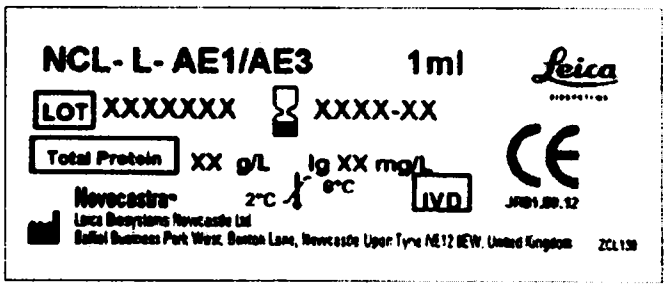
Rótulos originales:

- Multi-Citoqueratina AE1/AE3 (AE1/AE3-L-CE)

Rótulo externo:



Rótulo interno:

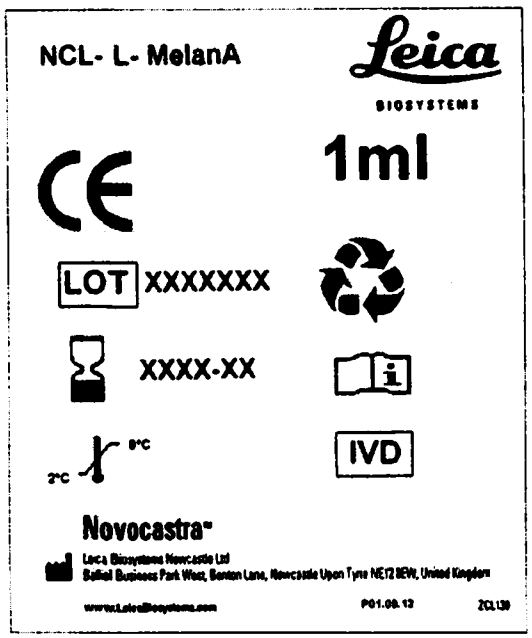


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

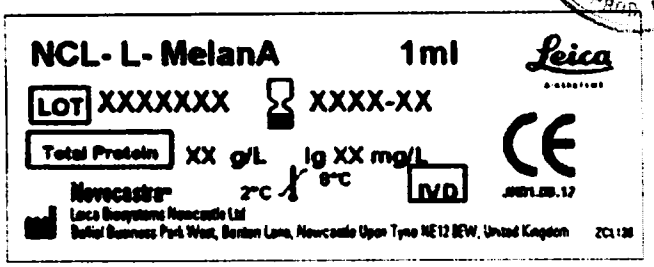
ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- MelanA (MelanA-L-CE)

Rótulo externo:

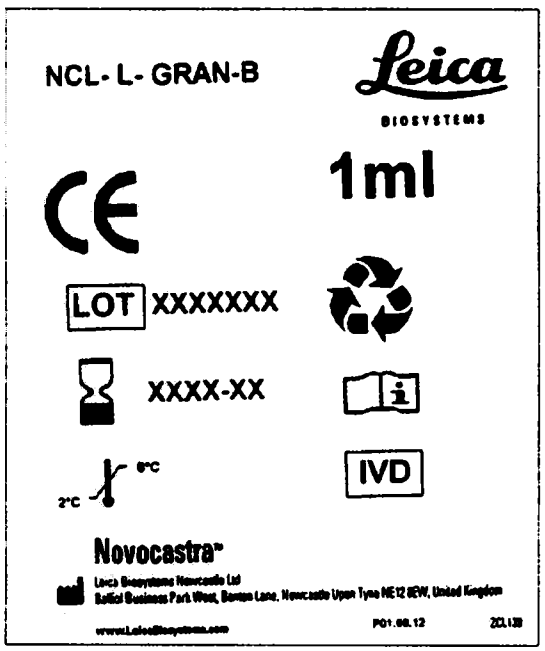


Rótulo Interno:

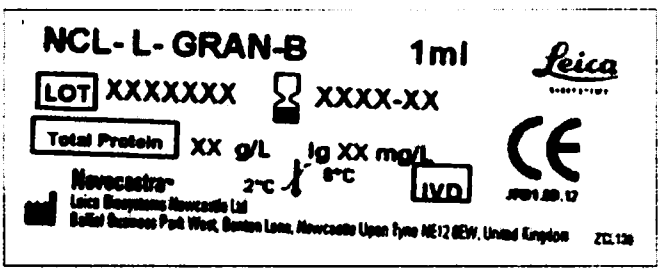


- *Granzyme-B (GRAN-B-L-CE)*

Rótulo externo:



Rótulo interno:

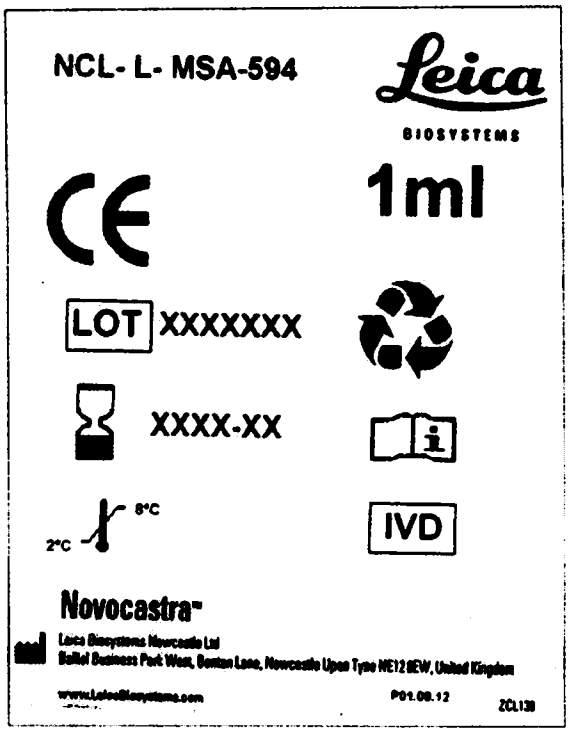


LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

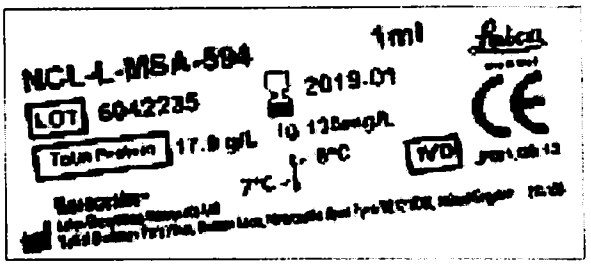
ANDREA PAOLI
DIRECTORA TÉCNICA
BIOGENICA S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- *Actina Específica de Músculo (MSA-594-L-CE)*

Rótulo externo:

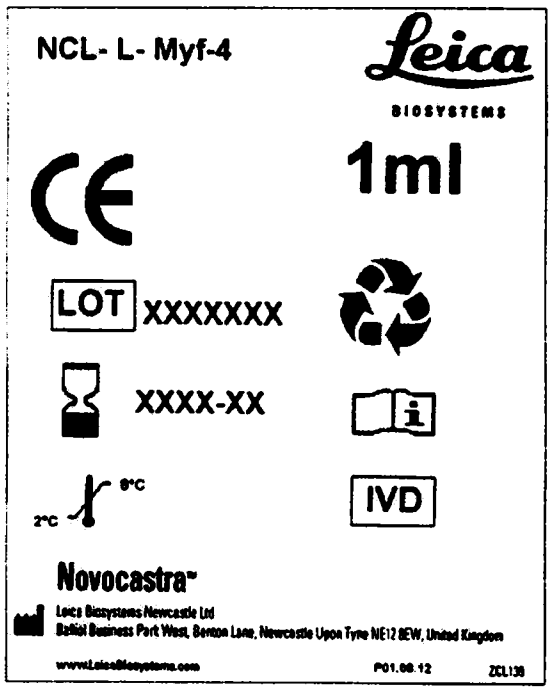


Rótulo interno:

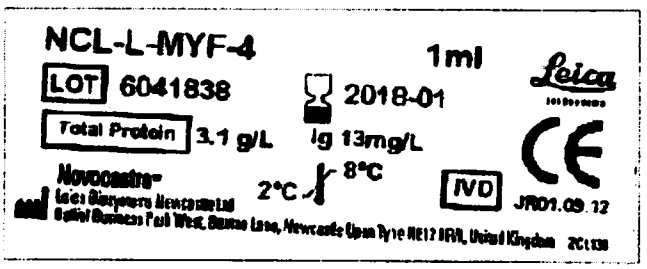


- *Marcador de Rhabdomyosarcoma (MYF-4-L-CE)*

Rótulo externo:



Rótulo interno:



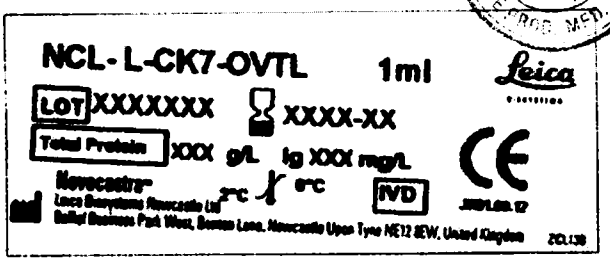
LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

- *Cytokeratin 7 (CK7-OVTL-L-CE)*

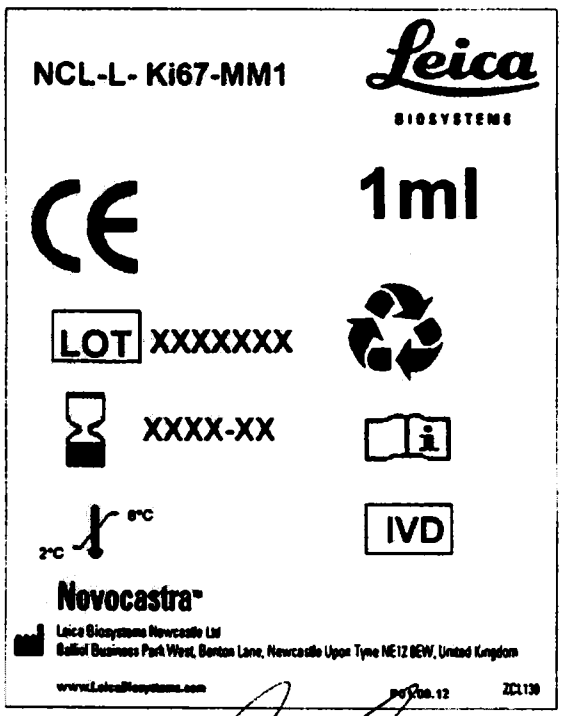
Rótulo externo:

Rótulo interno:

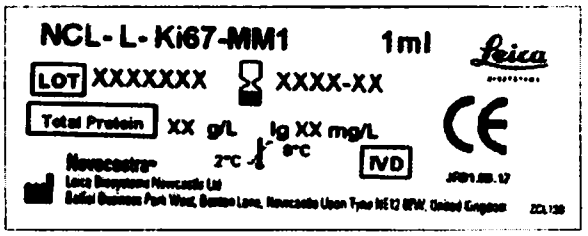


- *Ki67 Antigen (KI67-MM1-L-CE)*

Rótulo externo:



Rótulo interno:

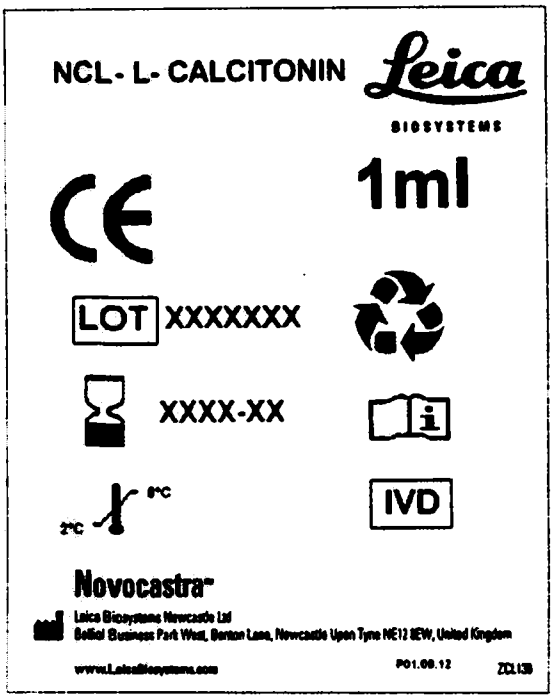


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

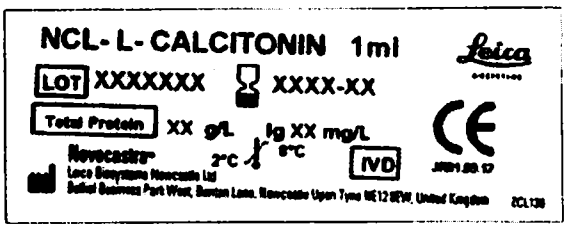
ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA M.N. 19.341
BIO-OPTICA S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435 0175

- *Calcitonin (CALCITONIN-L-CE)*

Rótulo Externo:

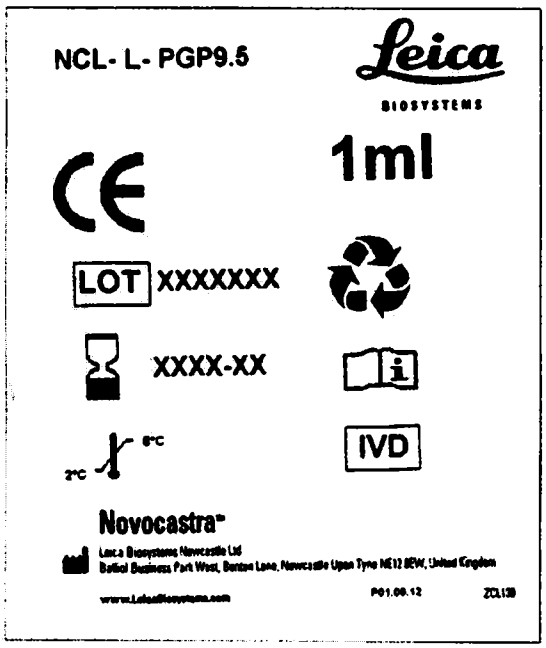


Rótulo Interno:

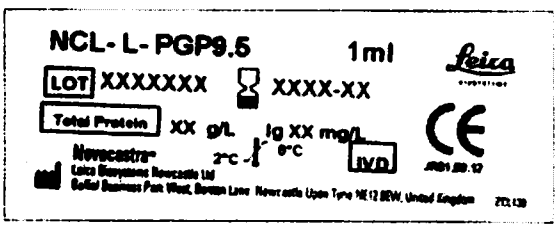


- *Protein Gene Product 9.5 (PGP9.5-L-CE)*

Rótulo externo:



Rótulo interno:

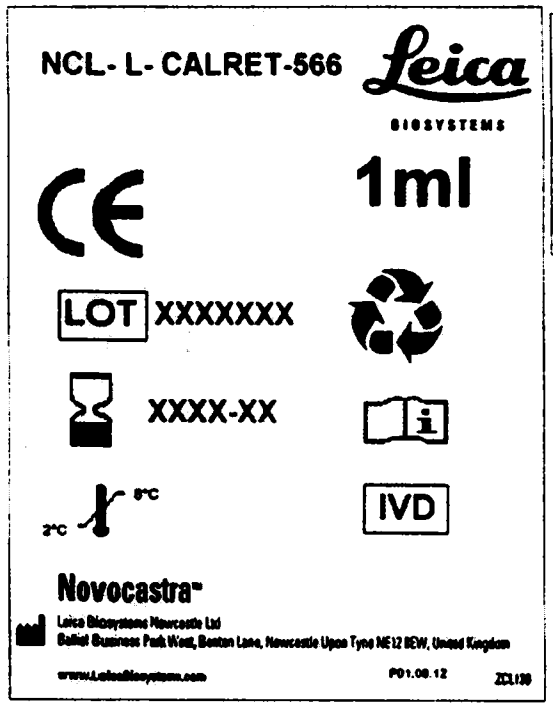


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

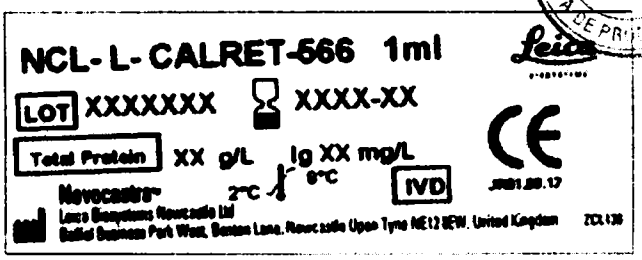
ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- *Calretinin (CALRET566-L-CE)*

Rótulo externo:

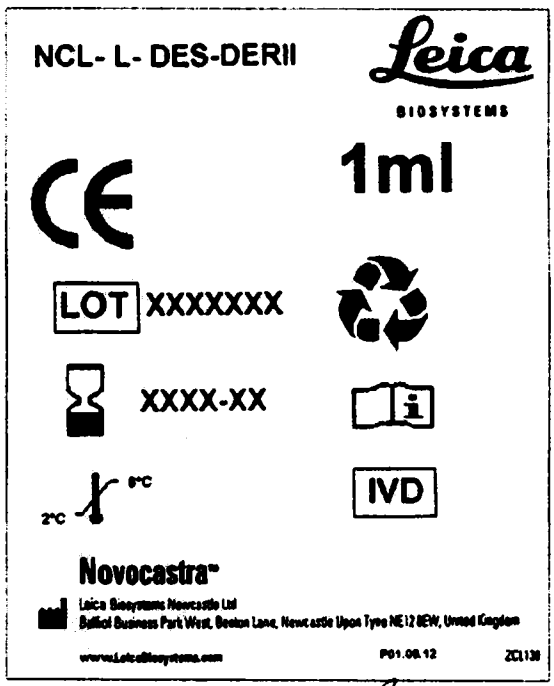


Rótulo interno:

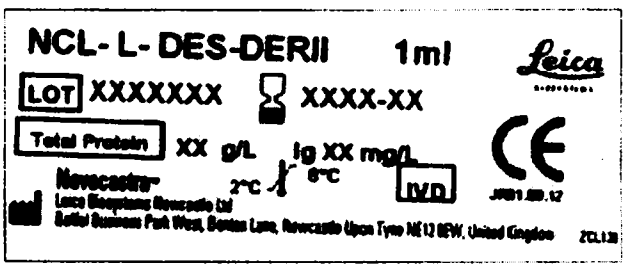


- *Desmin (DES-DERII-L-CE)*

Rótulo externo:



Rótulo interno:

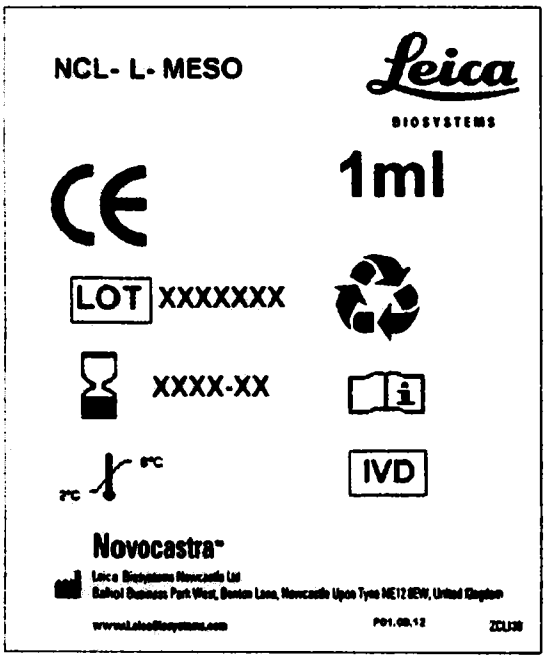


Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

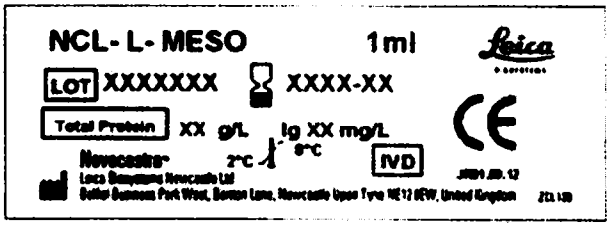
ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5439-0175

- *Mesothelin (MESO-L-CE)*

Rótulo externo:

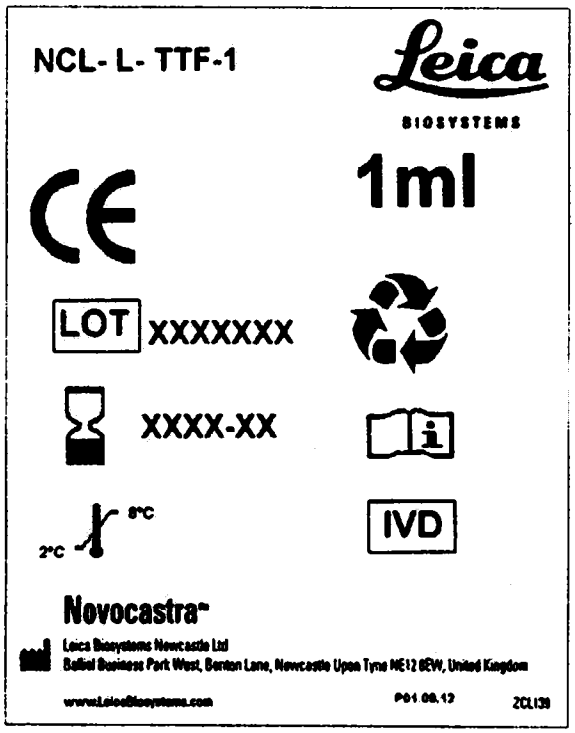


Rótulo interno:

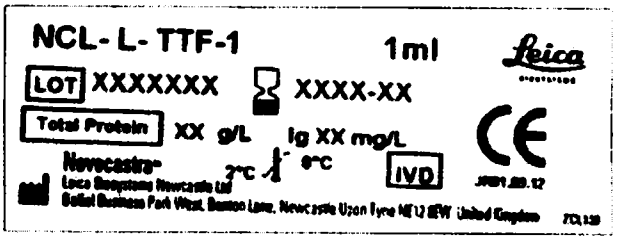


- *Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1-L-CE)*

Rótulo externo:



Rótulo interno:

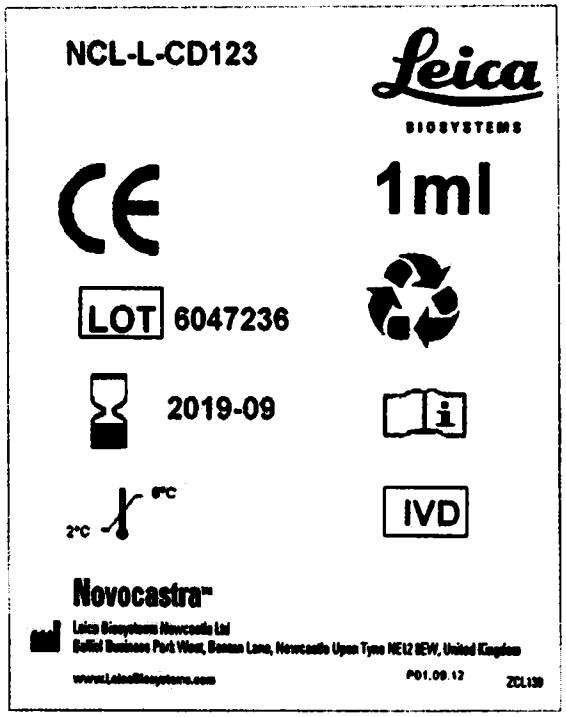


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

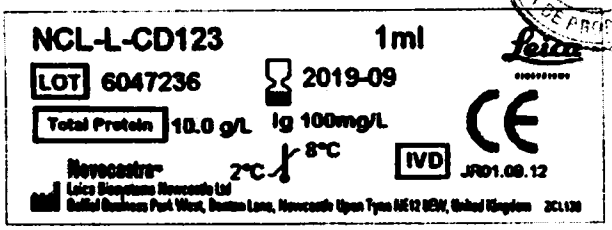
ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
BIO-OPTICS S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5[illegible]175

- *CD123 (NCL-L-CD123)*

Rótulo externo:



Rótulo interno:



A.N.M.A.T. FOLIO 50 MEDICAMENTOS

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 10341
DROGUERÍA R.L.
FIPOL 70 YRIGOYEN 2789 FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

- *Multi-Citoqueratina AE1/AE3 (AE1/AE3-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-AE1/AE3 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de cytokeratin. 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

Una mezcla de dos clones, AE1 y AE3, mezclados en una proporción 20:1.

Inmunógeno

Preparación de citoqueratinas epidérmicas humanas.

Especificidad

El clon AE1 reconoce las citoqueratinas humanas de 56,5, 50, 50', 48 y 40 kD de la subfamilia acídica.
El clon AE3 reconoce las citoqueratinas humanas de 65 a 67, 64, 59, 58, 56 y 52 kD de la subfamilia básica.

Composición Del Reactivo

NCL-L-AE1/AE3 es un fluido ascítico murino líquido purificado mediante cromatografía con proteína A, diluido en solución salina tamponada con fosfatos (pH 7,6), con proteína de transporte seroalbúmina bovina al 1% y con azida sódica 15 mM como conservante.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

Clase de Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

Concentración Total De Proteína

6,0–12,0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 128,5 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica (ver **D. Metodología**) con secciones de parafina. Dilución sugerida: 1:100 durante 60 minutos a 25°C. Se recomienda realizar recuperación de antígeno a alta temperatura utilizando 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 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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
PIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-0923 / 5435-0175

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.

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 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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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-AE1/AE3 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

Los clones AE1/AE3 exhiben una amplia reactividad con dos familias de citoqueratinas: acídicas y básicas. Se observó tinción en el citoplasma de las células epiteliales de una variedad de tejidos (n=75), incluidos el epitelio glandular de próstata, piel, mama y tiroides, y el epitelio escamoso y columnar de piel, amígdala palatina, cuello uterino, estómago, intestino delgado e intestino grueso. También se observó tinción en ovario, glándula salivar, endometrio y miometrio del útero, y túbulos y cápsula de Bowman del riñón. No se observó tinción en las células linfoides ni en el músculo esquelético.

Tejidos tumorales

Los clones AE1/AE3 tiñeron 49 de 91 casos de una variedad de tumores evaluados. Se observó positividad en los tumores de origen epitelial. No se observó tinción en los tumores no epiteliales, incluidos melanomas, linfomas y sarcomas.

NCL-L-AE1/AE3 está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos en la caracterización de diversas enfermedades malignas, y de las células normales de origen epitelial.

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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA - 1602
VICENTE LOPEZ - 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.

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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.

6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.

7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.

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

8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

N.M.A.T. FOLIO 53 MESA DE PROD. MED.

Correcciones A La Publicación Anterior

Concentración Total De Proteína ha cambiado.

Fecha De Publicación

10 de mayo de 2010 (NCL-L-AE1/AE3/CE/UK)

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM 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.
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 (NovocastraTM 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

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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 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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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.

F. Fecha de publicación

23/06/2004

- *Granzyme-B (GRAN-B-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-GRAN-B está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Granzyme B. 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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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

11F1

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica correspondiente al extremo aminoterminal de la molécula de granzima B madura.

Especificidad

Granzima B humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-GRAN-B 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 47 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: 1:40–1:80 durante 60 minutos a 25 °C. Se recomienda realizar recuperación de antígeno a alta temperatura utilizando 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 condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

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

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 palatina.

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

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 próstata.

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-GRAN-B 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 11F1 detectó la proteasa granzima B en los gránulos líticos citoplásmicos de los linfocitos T

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

citotóxicos (CTL, por sus siglas en inglés) y de las células asesinas (NK) en bazo y amígdala palatina. En ocasiones, tiñó células en el bronquio, endometrio, cuello uterino, y lámina propia del tracto gastrointestinal (n=55).

Tejidos tumorales

El clon 11F1 tiñó 4 de 8 linfomas de células T, 1 de 1 linfoma de células NK y, muy ocasionalmente, células de Reed-Sternberg en un número limitado de casos de enfermedad de Hodgkin. Además, tiñó células NK y CTL infiltrativos en una variedad de tejidos inflamados y neoplásicos (n=63).

NCL-L-GRAN-B está recomendado para utilizarse en la localización de gránulos líticos que contienen granzima B y en la caracterización de células NK y CTL activados.

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.

N.M.A.T. FOLIO 56 MESA DE PROD. MED.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA KAOU
DIRECTORA TÉCNICA MP 10341
BIOCOPRO S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 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. Lee HK, Kim HJ, Lee EH, et al. Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell lymphoma involving spleen in a renal transplant patient. J Korean Med Sci. 2003; 18:272–276.

6. Theate I, Michaux L, Dardenne S, et al. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease occurring in a patient with sarcoidosis treated by methotrexate and methylprednisone. European Journal of Haematology. 2002; 69(4):248–253.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

02 de septiembre de 2014

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM 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.
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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL 4791-9923 / 5435-4175

2. Olla a Presión de Acero Inoxidable (NovocastraTM 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 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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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.

F. Fecha de publicación

23 de junio de 2004

- *Actina Específica de Músculo (MSA-594-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

El NCL-L-MSA-594 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculasde actina muscular específica. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y

ANDREA DACUZ
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-6175

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

SC28

Inmunógeno

Proteína recombinante procariótica correspondiente a 187 aminoácidos de la molécula de actina muscular específica humana.

Especificidad

Actina muscular específica humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-MSA-594 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína

12.0–30.0. g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 243 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: 1:400 durante

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

30 minutos a 25 °C.

Recuperación de epítopos inducida por calor con Epitope Retrieval Solution pH 6.0 (RE7113 o RE7114). 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.

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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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 intestino normal.

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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-MSA-594 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 SC28 detectó la proteína de la actina muscular específica en el citoplasma de las células musculares de diversos tejidos. Se detectó la expresión en fibras musculares de colon, intestino delgado, útero, glándulas salivares, mama, corazón y músculo esquelético. (Número total de casos = 32)

Tejidos tumorales

El clon SC28 detectó la proteína de la actina muscular específica en 50 de 142 tumores evaluados, incluidos 23 de 29 leiomiosarcomas, 18 de 19 rabdomiosarcomas, 5 de 14 histiocitomas fibrosos malignos, 2 de 8 liposarcomas, 1 de 7 fibrosarcomas y 1 de 1 hemangiosarcoma. No se detectó tinción en carcinomas de células escamosas (0 de 8), dermatofibrosarcoma protuberante (0 de 5), mixoliposarcoma (0 de 5), neurofibrosarcoma (0 de 4), tumores de estómago (0 de 4), tumores de tiroides (0 de 4), tumores de hígado (0 de 4), tumores de ovario (0 de 4), tumores colorrectales (0 de 4), liposarcomas bien diferenciados (lipoma-like) (0 de 3), tumores cerebrales (0 de 2), tumores de mama (0 de 2), tumores pancreáticos (0 de 2), linfomas (0 de 2), tumores pulmonares (0 de 2), tumores renales (0 de 2), tumores de próstata (0 de 2), tumores metastásicos (0 de 2), histiocitoma mucoide maligno (0 de 1), schwannoma maligno (0 de 1) y melanoma maligno (0 de 1). (Número total de casos = 142)

El NCL-L-MSA-594 está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos para la clasificación de los tumores originados en músculos o en tejidos blandos.

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

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

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. Chaponnier C and Gabbiani G. Pathological situations characterised by altered actin isoform expression. Journal of Pathology. 2004; 204:386–395.
6. Hodgkinson J. Actin and the smooth muscle proteins: a structural perspective. Journal of Muscle Research and Cell Motility. 2000; 21:115–130

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

5 de noviembre de 2009

Metodología inmunohistoquímica para la utilización de anticuerpos NovocastraTM, en tejidos incluidos en parafina, con la aplicación de la técnica de recuperación de epítopos 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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

3. Solución para la recuperación de epítopos (véase la sección C Soluciones para la recuperación de epítopos).

4. Diluyente del anticuerpo, NovocastraTM IHC Diluent, RE7133.

5. Sistema de visualización, NovolinkTM 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 epítopos: baño de agua o de vapor, olla de presión u otro equipo de laboratorio con temperatura controladat.

3. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.

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

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 epítopos

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 NovolinkTM Polymer Detection Systems, RE7280-K (1250 tests), RE7150-K (500 tests), RE7140-K (250 tests) o RE7290-K (50 tests).

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

E. Correcciones con respecto a la publicación anterior

No aplicable.

F. Fecha de publicación

23 de abril de 2008

A.N.M.A.T. FOLIO 61 MESA DE PROD. MED.

- *Marcador de Rhabdomyosarcoma (MYF-4-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-Myf-4 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Myf-4 (Rhabdomyosarcoma Marker). 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

LO26

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica correspondiente a la molécula de Myf-4.

Especificidad

Producto del gen Myf-4 humano.

Composición Del Reactivo

NCL-L-Myf-4 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

AS M. VILLEGAS
GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
PIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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 13 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: 1:20–1:40 durante 60 minutos a 25 °C. Se recomienda realizar recuperación de antígeno a alta temperatura utilizando 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 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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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.

A.N.M.A.T. FOLIO 62 MESA DE PROD. MED.

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 rabdomiosarcoma o línea celular RH30.
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 amígdala palatina, en el que los linfocitos dan negativo.
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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA MP 19341
BIO OPTICA S.R.L
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA - 1602
VICENTE LOPEZ - TEL 4701-0923 / 5435-0175

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-Myf-4 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 LO26 detectó expresión débil del producto del gen Myf-4 en el núcleo de las células musculares esqueléticas. No se observó tinción en una variedad de otros tejidos normales (n=92).

Tejidos tumorales

El clon LO26 tiñó 8 de 10 rabdomiosarcomas y la línea celular RH30. No se observó tinción en los demás tumores evaluados (n=86).

NCL-L-Myf-4 está recomendado como ayuda en el diagnóstico de rabdomiosarcoma.

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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

DIRECTOR TÉCNICO
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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. Den Bakker MA, Seynaeve C, Kliffen M et al. Microsatellite instability in a pleomorphic rhabdomyosarcoma in a patient with hereditary non-polyposis colorectal cancer. Histopathology. 2003; 43(3):297–299.

6. Ingeholm P, Theilgaard SA, Buchwald C et al. Esthesioneuroblastoma: a Danish clinicopathological study of 40 consecutive cases. APMIS. 2002; 110(9):639–645.

7. Kumar S, Perlman E, Harris CA et al. Myogenin is a specific marker for rhabdomyosarcoma: an immunohistochemical study in paraffin-embedded tissues. Modern Pathology. 2000; 13(9):988–993.

8. Gilpin BJ, Loechel F, Mattei M-G et al. A novel, secreted form of human ADAM 12 (meltrin α) provokes myogenesis in vivo. Journal of Biological Chemistry. 1998; 273(1):157–166.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

03 de abril 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 LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM 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.
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 (NovocastraTM 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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANA READAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 10341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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 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.

A.N.M.A.T. FOLIO 64 MESA DE PROD. MED.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA MP 19341
BIO-OPTICA S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-1126

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.

F. Fecha de publicación

23 de junio de 2004

- *Cytokeratin 7 (CK7-OVTL-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CK7-OVTL está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Cytokeratin 7. 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

OV-TL 12/30

Inmunógeno

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

Línea de células de carcinoma del ovario OTN 11 .

Especificidad

Proteína del filamento intermedio citoqueratina 7 humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-CK7-OVTL es un sobrenadante de cultivo tisular líquido, presentado en solución salina tamponada con fosfatos (pH 7,6) con proteína de transporte seroalbúmina bovina al 1% y con azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG1, kappa

Concentración Total De Proteína

8,0–12,0 g/L. Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 67 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: 1:50 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 realizar digestión con tripsina. 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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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 endometrio.

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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijado en formol 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-CK7-OVTL 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 OV-TL 12/30 detecta la citoqueratina 7 en el citoplasma de un gran número de tipos de células epiteliales, incluyendo los epitelios simples, complejos, de transición, de los conductos y glandulares. Tiñe de forma coherente el endometrio, los alvéolos pulmonares, los conductos biliares del hígado, los conductos pancreáticos, el epitelio bronquiolar, la tiroides, los túbulos contorneados distales y conductos colectores del riñón. También se observó tinción en las glándulas del endocérvix, bronquio, mama, glándulas salivares, glándulas sudoríparas de la piel, mioepitelio (variable), mesotelio del ovario, trofoblastos placentarios, todas las capas celulares del urotelio y el epitelio superficial del estómago. Los tejidos no epiteliales, tales como músculo liso, tejido conjuntivo, tejido linfoide y vasos sanguíneos, dan

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

uniformemente negativo.

Tejidos tumorales

El clon OV-TL 12/30 tiñó 37 de 40 carcinomas de mama. Se observó además tinción en 11 de 12 adenocarcinomas pulmonares, incluyendo un carcinoma bronquiolar, 6 de 6 carcinomas del ovario de distintos grados y subtipos, 5 de 5 carcinomas de célula de transición de la vejiga, 2 de 2 carcinomas medulares de la tiroides, 2 de 2 carcinomas del endometrio, 1 de 1 adenocarcinoma pancreático y 1 de 1 carcinoma cromófobo renal. No se observó tinción con este anticuerpo en carcinomas pulmonares de célula pequeña (0 de 5), carcinomas escamosos del pulmón (0 de 7), adenocarcinomas del colon (0 de 7), melanomas (0 de 2) o en diversos otros tumores, tanto benignos como malignos (n=42), incluidos los adenomas del colon y la glándula suprarrenal, linfoma, leiomiosarcoma, histiocitomas fibrosos malignos, carcinomas de células escamosas de origen no pulmonar, seminomas y tumores del estroma gastrointestinal.

NCL-L-CK7-OVTL está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos para el diagnóstico diferencial de los carcinomas.

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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
(SOCIO GERENTE

HIPOLITO YRIGOYEN 2789
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.

6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

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.

Fecha De Publicación

28 de octubre de 2013

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM 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.
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.

A.N.M.A.T. FOLIO 67 MESA DE PROD. MED.

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

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 (NovocastraTM 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 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
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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.

F. Fecha de publicación

23rd June 2004

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM sobre tejido incluido en parafina, mediante la digestión de tripsina.

A. Reactivos necesarios que no se incluyen

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

1. Disolventes estándar utilizados en inmunohistocitoquímica.

2. 30% Peróxido de hidrógeno.

3. Solución salina tamponada Tris (TBS) 50mM pH7,6.

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.

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 de hematoxilina - preparar según la recomendación del fabricante.

10. Medio de montaje - utilizar según la recomendación del fabricante.

B. Equipo necesario, pero no incluido

1. Incubadora graduada a 25°C.

2. Baño de agua graduado a 37°C.

3. Equipo general para laboratorio de inmunohistocitoquímica.

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

Solución enzimática de tripsina

Precalentar lo siguiente hasta 37°C, utilizando un baño de agua:

0,2L agua destilada.

0,2L TBS.

Disolver 0,2g de tripsina 250 (código DIFCO de producto 0152-13) y 0,2g de cloruro cálcico en 0,2L TBS.

Cuando la solución enzimática de tripsina se encuentra a 37°C, ajustar el pH a 7,8 con hidróxido sódico 0,1M.

D. 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 minutos.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

5. Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo.

Pretratar las secciones como se describe a continuación:

6. Colocar los portaobjetos en el agua destilada precalentada (37°C), para calentar las secciones durante un mínimo de 5 minutos.

7. Incubar en la solución enzimática de tripsina a 37°C, durante 30 minutos (o el tiempo alternativo, si así se indica en las Recomendaciones de Uso).

8. Lavar las secciones en TBS durante 1 x 5 minutos, balanceando suavemente.

9. Cubrir las secciones con suero normal diluido, durante 10 minutos.

10. Incubar las secciones con anticuerpo primario en dilución óptima (ver Recomendaciones de Uso).

11. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.

12. Incubar las secciones en el anticuerpo secundario biotinilado apropiado.

13. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.

14. Incubar los portaobjetos en ABC-HRP.

15. Lavar en tampón TBS durante 2 x 5 minutos, balanceando suavemente.

16. Incubar los portaobjetos en DAB.

17. Enjuagar los portaobjetos con agua.

18. Contrateñir con hematoxilina.

19. Deshidratar, aclarar y montar las secciones.

E. Correcciones a la Publicación Anterior

No corresponde.

F. Fecha de Publicación

18 de agosto de 2003

- *Ki67 Antigen (KI67-MM1-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-Ki67-MM1 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Ki67 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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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

MM1

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica correspondiente a un fragmento de cADN de 1086 pb que contiene el motivo Ki67.

Especificidad

Antígeno nuclear Ki67 humano, expresado en todas las células proliferativas durante las fases G1, S, M y G2 tardías del ciclo de la célula.

Composición Del Reactivo

NCL-L-Ki67-MM1 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 61,2 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 epítopos inducida por calor (HIER): Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

AN. REA BACU.
DIRECTOR TÉCNICO
HIPÓLITO YRIGOYEN 2785 - 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 incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del

A.N.M.A.T. FOLIO 70 MESA DE PROD. MED.

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

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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 palatina.

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.

LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANA REA DADOU
DIRECTORA TÉCNICA
HIPÓLITO YRIGOYEN 2785
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-Ki67-MM1 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 MM1 detectó el antígeno Ki67 en el núcleo de células proliferantes en 11 de los 44 casos normales evaluados, incluidas células proliferantes dentro de la cripta del íleo, el ciego, el colon y el recto, células proliferantes dentro del ganglio linfático, el timo, las células parabasales y suprabasales de la lengua, elementos epiteliales y celulares estromales del proendometrio, elementos con centros germinales de la tonsila, elementos celulares ductales de la mama y células aisladas en las capas suprabasal y parabasal del esófago. (Número total de casos normales evaluados = 44).

Tejidos tumorales

El clon MM1 tiñó 26 de los 70 tumores evaluados, incluidos tumores de mama (12/29, incluidos 11/26 carcinomas ductales y 1/1 carcinomas medulares), tumores pulmonares (3/4, incluidos 2/2 carcinomas de células no pequeñas y 1/1 carcinomas de células escamosa), tumores de ovario (2/4, incluidos 2/2 cistoadenocarcinomas), carcinomas papilares tiroideos (1/4), tumores hepáticos (1/4, incluidos 1/1 carcinomas metastásicos), carcinomas de células escamosas del cuello del útero (2/2), adenocarcinomas de colon (2/2), carcinomas de células renales (1/2), carcinomas de células escamosas del esófago (1/1), carcinomas de células escamosas de la lengua (1/2), tumores cerebrales (0/2), adenocarcinomas de estómago (0/2), tumores del tejido blando (0/2), tumores metastásicos de origen desconocido (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas rectales (0/2), tumores cutáneos (0/2), un carcinoma de células escamosas de la laringe (0/1) y un tumor carcinoide atípico de timo (0/1). (Número total de casos de tumores evaluados = 70).

NCL-L-Ki67-MM1 está recomendado para la evaluación de la proliferación de células en tejidos normales y neoplásicos.

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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 10361
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - 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. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology.2002; 160(2):613–620.

6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.

7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.

8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

AN. RE DAOU
DIRECTORA TÉCNICA MP 9341
LIC. CYTOLOGA
HIPOLITO YRIGOYEN 2739 FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL 4791-9923 / 5435-0175

9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma: Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.

10.Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.

11.Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.

12.Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.

13.Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.

14.Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.

15.Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.

16.Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

Correcciones A La Publicación Anterior

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

Fecha De Publicación

11 de abril de 2013

- *Calcitonin (CALCITONIN-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CALCITONIN está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Calcitonina. 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

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAGLI
DIRECTORA TÉCNICA MP 10341
BIO-OPTICA S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA - (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0179

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

CL1948

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica que contiene 32 aminoácidos correspondientes a la molécula de calcitonina humana madura.

Especificidad

Calcitonina humana.

Composición Del Reactivo

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

Clase de Ig

IgG2b

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 29 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. Recuperación de epítopos inducida por enzimas (EIER). Siga las instrucciones de uso de Novocastra Enzyme Proteinase K (IHC),

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

AN. RE. DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 10341
BIO-OPTICA S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

RE7160–K. Dilución sugerida: 1:200 durante 30 minutos a 25 °C.

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

Visualización. Por favor, siga las instrucciones de uso de NovolinkTM 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 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.

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 / 5435-0175

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 glándula tiroidea (células C).

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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

AN[illegible]RSA DAOU
DIRECTORA [illegible] MP 19341
[illegible]
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - [illegible] 1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435 0175

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-CALCITONIN 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 CL1948 detectó la proteína calcitonina en el citoplasma de células C de la glándula tiroidea. Se detectó también una expresión débil en los túbulos renales. (Número total de casos = 33).

Tejidos tumorales

El clon CL1948 detectó la proteína calcitonina en 8 de 40 tumores tiroideos evaluados, incluidos 8 de 8 tumores tiroideos medulares. No se detectó tinción en carcinomas papilares de la glándula tiroidea (0 de 13), carcinomas foliculares de la glándula tiroidea (0 de 7), hiperplasias adenomatosas (0 de 5), adenomas foliculares (0 de 5) ni en carcinomas anaplásicos de la glándula tiroidea (0 de 2). No se detectó tinción en ninguna de las 42 enfermedades malignas que no son de la glándula tiroidea, entre las cuales se contaban carcinomas de células escamosas (0 de 10), tumores de hígado (0 de 4), tumores de ovario (0 de 4), tumores colorrectales (0 de 3), linfomas (0 de 3), tumores cerebrales (0 de 2), tumores de mama (0 de 2), tumores de estómago (0 de 2), tumores de páncreas (0 de 2), tumores de pulmón (0 de 2), tumores metastásicos no especificados (0 de 2), tumores de riñón (0 de 2) y tumores de próstata (0 de 4). (Número total de casos = 82).

El NCL-L-CALCITONIN está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos en la caracterización de las enfermedades malignas de la glándula tiroidea.

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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DIOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
BIO-OPTICA S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-0923 / 5435-0175

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, et al. 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. Leboulleux S, Baudin E, Travagli J et al. Medullary thyroid carcinoma. Clinical Endocrinology. 2004; 61:299–310. 6. Hirsch P, Lester G, Talmage R. Calcitonin, an enigmatic hormone: does it have a function? Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions. 2001; 1(4):299–305.

7. Pondel M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. International Journal of Experimental Pathology. 2000; 81:405–422.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

26 de marzo de 2013

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM sobre tejido encastrado en parafina, mediante la digestión con Enzyme Proteinase K.

A. Reactivos necesarios que no se suministran

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA MP 10341
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - PLOR... (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

1. Disolventes estándar utilizados en inmunohistocitoquímica.

2. Solución salina tamponada con Tris (TBS) 50 mM pH 7,6.

3. Solución enzimática (vea C. **Solución enzimática**).

4. Diluyente para anticuerpos – Novocastra IHC Diluent, RE7133.

5. Sistema de visualización , NovolinkTM Polymer Detection Systems, RE7280–K (1250 tests), RE7150–K (500 tests), RE7140–K (250 tests) or RE7290–K (50 tests).

6. Medio de montaje – utilizar según la recomendación del fabricante.

B. Equipo necesario, que no se suministra

1. Incubadora ajustada a 25 °C.

2. Equipo general para laboratorio de inmunohistocitoquímica.

C. Solución enzimática (vea las **Recomendaciones de Uso)**

Enzyme Proteinase K (IHC), RE7160–K.

D. Metodología

Antes de utilizar esta metodología, los usuarios deben haber recibido formación en técnicas de inmunohistocitoquímica.

Los Usuario deberán determinar las diluciones óptimas para los anticuerpos. A menos que se indique de otra manera, todos los pasos se efectúan a temperatura ambiente (25 °C).

1. Corte y monte las secciones sobre portaobjetos tratados con un adhesivo adecuado para tejidos.

2. Desparafine las secciones en xileno o en sustitutos del xileno.

3. Rehidrate en alcoholes de gradación decreciente.

4. Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo.

Pretratar las secciones como se describe a continuación:

5. Lave los portaobjetos con agua desionizada.

6. Incube en la Enzyme Proteinase K a 25 °C, durante 5 minutos (o el tiempo alternativo, si así se indica en las **Recomendaciones de Uso**).

7. Lave con TBS.

8. Proceda con el protocolo de IHC conforme a las Instrucciones de uso del fabricante para el anticuerpo primario y del sistema de detección.

E. Correcciones a la Publicación Anterior

No corresponde.

F. Fecha de Publicación

17 de noviembre de 2009

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

- *Protein Gene Product 9.5 (PGP9.5-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-PGP9.5 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Protein Gene Product 9.5. 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

10A1

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica correspondiente a la longitud completa de la molécula de proteína producto del gen 9.5 humana.

Especificidad

Proteína producto del gen 9.5 humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-PGP9.5 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

Clase de Ig

IgG2b

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 DAGO
DIRECTOR TÉCNICO CP 19341
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 31,5 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

FOLIO 76

Recomendaciones De Uso

Inmunohistocitoquímica (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 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 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

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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 intestino delgado, en el que se tiñen las células ganglionares entéricas. 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 amígdala palatina, en el que las células linfoides dan negativo. 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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
GERENTE

AN. RES. DAOU
DIRECTORA TÉCNICA MP 19341
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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.

A.N.M.A.T. FOLIO 77 ASA DE PROD. MED.

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-PGP9.5 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 10A1 detectó la proteína producto del gen 9.5 (PGP9.5) en las neuronas y fibras nerviosas del sistema nervioso central y periférico. PGP9.5 fue detectada también en el citoplasma y el núcleo de algunas células neuroendocrinas, en los segmentos de los túbulos renales, en los espermatogonios y en las células de Leydig del testículo, en los óvulos y en los cuerpos lúteos (n=65).

Tejidos tumorales

El clon 10A1 tiñó una variedad de tumores (n=144) de origen neuroendocrino, incluidos 3 de 4 tumores pancreáticos, 2 de 3 feocromocitomas, 4 de 6 carcinoides, 2 de 2 neuroblastomas, 2 de 2 tumores ganglionares y 1 de 1 neurofibroma. También tiñó 1 de 8 melanomas y 4 de 7 tumores estromales gastrointestinales. No se observó tinción en otros tumores evaluados, incluidos los de próstata, mama, colon, y los linfomas.

NCL-L-PGP9.5 está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos para la caracterización de los tumores de origen neuroendocrino.

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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOIL
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
BIO OPTICS SRL
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0176

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. Beresford L, Orange O, Bell EB et al. Nerve fibres are required to evoke a contact sensitivity response in mice. Immunology. 2004; 111(1):118–125.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

20 de junio de 2008

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM 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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

AN. REA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA M.P. 19341
PM CONTROL S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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 (NovocastraTM 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).

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DADO
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
BIO OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0178

A.N.M.A.T.
FOLIO
79
MESA DE PROD. MED.

D. 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 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 OPTICA 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.

A.N.M.A.T. FOLIO 80 MESA DE PROD. MED.

F. Fecha de publicación

23 de Junio de 2004

- *Calretinin (CALRET566-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CALRET-566 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Calretinin. 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

CAL6

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica correspondiente a la molécula entera de calretinina humana.

Especificidad

Molécula de calretinina humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-CALRET-566 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como

Lic. LUCAS M. VILLEGAS

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19541
CIO-OPTIC S.R.L.
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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 60 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.

Recuperación de epítopos 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

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANA REA DANU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 10341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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 testículo 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 amígdala palatina.

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,

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

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-CALRET-566 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 CAL6 detecta la proteína calretinina en las células mesoteliales, en algunas neuronas del sistema nervioso central y de nervios periféricos (en particular, las neuronas grandes), en algunas células tecales del ovario y en las células de Leydig y los espermatogonios del testículo. No se observó tinción adicional, excepto de los elementos de nervios y, a veces, de células infiltrativas, en otros tejidos distintos y normales que se analizaron (n=49).

Tejidos tumorales

El clon CAL6 tiñó 8 de 9 mesoteliomas, 1 de 2 carcinomas gástricos, 2 de 2 oncocitomas suprarrenales; se observó tinción focal en 1 de 3 melanomas, 2 de 5 tumores del ovario y un tumor de células de los islotes pancreáticos. No se observó tinción en otra serie de distintos tumores evaluados (n=74)

NCL-L-CALRET-566 está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos en la identificación de los mesoteliomas.

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

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

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. Groves P, Palczewska M. Calcium binding properties of calretinin, an EF-hand calcium-binding protein. Acta Biochimica Polonica 2001, 48(1), 113–119.

6. Rogers JH. Calretinin: a gene for a novel calcium-binding protein expressed principally in neurons. The Journal of Cell Biology 1987, 105, 1343–1353.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

A.N.M.A.T. FOLIO 82 PROD. MED.

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

Fecha De Publicación

03 de abril de 2014

Metodología inmunohistoquímica para la utilización de anticuerpos NovocastraTM, en tejidos incluidos en parafina, con la aplicación de la técnica de recuperación de epítopos 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 epítopos (véase la sección C Soluciones para la recuperación de epítopos).
4. Diluyente del anticuerpo, NovocastraTM IHC Diluent, RE7133.
5. Sistema de visualización, NovolinkTM 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 epítopos: 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 epítopos (véanse las Recomendaciones de uso de alguna de las siguientes)

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).

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

Recuperación de epítopos

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 NovolinkTM 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

- *Desmin (DES-DERII-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-DES-DERII está indicado para la identificación cualitativa mediante microscopía óptica de la desmina humana 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 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

DE-R-11

Inmunógeno

Desmina porcina purificada.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 10341
BIO-OPTICS S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1603)
VICENTE LOPEZ - TEL 4791-9923 / 5435-...76

Especificidad

Desmina humana, proteína de los filamentos intermedios de 53 kD en células musculares.

Composición Del Reactivo

NCL-L-DES-DERII 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 27 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 epítopos inducida por calor (HIER): Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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. 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

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREY DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
FEDERICO LACROZE
HIPÓLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL: 4791-9923 / 5435 0175

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

El tejido de control positivo recomendado es el del intestino.

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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
LEICA BIOSYSTEMS S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL 4791-9923 / 5435 0179

El tejido de control negativo recomendado es el de las amígdalas (linfocitos).
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-DES-DERII 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 DE-R-11 detectó la proteína de los filamentos intermedios, desmina, en el citoplasma de las células de músculo tanto estriado como liso en distintos tejidos sanos. (Número total de casos normales evaluados = 188).

Anormal del tejido

El clon DE-R-11 tiñó 31/43 liomiomas, 5/6 liomiosarcomas, 1/1 angioleiomioma, 1/2 rabdomiosarcomas

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - M.P 19341
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL 4791-9923 / 5435-0175

polimorfos, ½ rabdomiosarcomas alveolares y 1/1 mesenquimoma. No se observó tinción en los fibrosarcomas (0/7), los tumores del estroma gastrointestinal (0/5), los condrosarcomas (0/4), los histiocitomas fibrosos (0/3), los hemangiomas cavernosos (0/2), los sarcomas sinoviales (0/2), el fibrolipoma (0/1), el lipoma (0/1), el tumor fibroso solitario (0/1), el epitelioma (0/1), el mesotelioma (0/1), el hemangiopericitoma (0/1), el liposarcoma (0/1), el mixoliposarcoma (0/1), el dermatofibrosarcoma (0/1), los cánceres tiroideos (0/4), los cánceres de pulmón (0/4), los cánceres ováricos (0/4), los cánceres hepáticos (0/4), los tumores cerebrales (0/2), los cánceres esofágicos (0/2), los cánceres de mama (0/2), los cánceres gástricos (0/2), los tumores de partes blandas (0/2), los cánceres de lengua (0/2), los cánceres metastásicos de origen desconocido (0/2), los cánceres de riñón (0/2), los tumores cervicales (0/2), los tumores testiculares (0/2), los cánceres de colon (0/2), los tumores rectales (0/2), los cánceres de piel (0/2), el cáncer de laringe (0/1) o el cáncer de timo (0/1). (Número total de casos anómalos evaluados = 131).

El NCL-L-DES-DERII se recomienda para la detección de desmina humana en tejidos normales y neoplásicos.

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

S.N.M.A.T. FOLIO 85

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA MP 19.341
BIO-OPTICA S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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. Katsuta T, Inoue T, Nakagaki H et al. Distinctions between pituicytoma and ordinary pilocytic astrocytoma. Journal of Neurosurgery. 2003; 98:404-406.

6. Wharton SB, Wardle C, Ironside JW et al. Comparative genomic hybridization and pathological findings in atypical teratoid/rhabdoid tumour of the central nervous system. Neuropathology and Applied Neurobiology. 2003; 29(3):254-261.

7. Barash IA, Peters D, Fridén J et al. Desmin cytoskeletal modifications after a bout of eccentric exercise in the rat. American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2002; 283(4):R958-R963.

8. Beaton LJ, Tarnopolsky MA and Phillips SM. Contraction-induced muscle damage in humans following calcium channel blocker administration. Journal of Physiology. 2002; 544(Pt3):849-859.

9. Oliveira-Soares R, Viana I, Vale E et al. Dermatofibrosarcoma protuberans: a clinicopathological study of 20 cases. Journal of the European Academy of Dermatology & Venereology. 2002; 16(5):441-446.

10.Barber A, Robson SC, Myatt L et al. Heme oxygenase expression in human placenta and placental bed: reduced expression of placenta endothelial HO-2 in preeclampsia and fetal growth restriction. The FASEB Journal. 2001; 15:1158-1168.

11.Lyall F, Bulmer JN, Duffie E et al. Human trophoblast invasion and spiral artery transformation: the role of PECAM-1 in normal pregnancy, preeclampsia, and fetal growth restriction. American Journal of Pathology. 2001; 158(5):1713-1721.

12.Lyall F, Simpson H, Bulmer JN et al. Transforming growth factor-beta expression in human placenta and placental bed in third trimester normal pregnancy, preeclampsia, and fetal growth restriction. American Journal of Pathology. 2001; 159(5):1827-1838.

13.Varayoud J, Ramos JG, Joazeiro PP et al. Characterization of fibroblastic cell plasticity in the lamina propria of the rat uterine cervix at term. Biology of Reproduction. 2001; 65:375-383.

14.Rezzani R, Rodella L and Bianchi R. Cyclosporine A affects the organization of cytoskeletal fibrillar proteins in rat thymus. Acta Histochemica. 2000; 102:57-67.

15.Baghdiguian S, Martin M, Richard I, et al. Calpain 3 deficiency is associated with myonuclear apoptosis

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

and profound perturbation of the IκBα/NF-κB pathway in limb-girdle muscular dystrophy type 2A. Nature Medicine. 1999; 5(5):503-511.
16.Chinni C, de Niese MR, Tew DJ et al. Thrombin, a survival factor for cultured myoblasts. Journal of Biological Chemistry. 1999; 274(14):9169-9174.
17.Oberpenning F, Meng J, Yoo JJ et al. De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering. Nature Biotechnology. 1999; 17:149-155.
18.Shi Y, O'Brien JE, Mannion JD et al. Remodeling of autologous saphenous vein grafts: the role of perivascular myofibroblasts. Circulation. 1997; 95:2684-2693.
19.Shi Y, Pieniek M, Fard A et al. Adventitial remodeling after coronary arterial injury. Circulation. 1996; 93:340-348.
20.Debus E, Weber K and Osborn M. Monoclonal antibodies to desmin, the muscle-specific intermediate filament protein. The EMBO Journal. 1983; 2(12):2305-2312.

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

- *Mesothelin (MESO-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-MESO está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Mesothelin. 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 TECNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - 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

5B2

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica correspondiente a aproximadamente 100 aminoácidos que están presentes en la forma unida a membrana de la molécula de mesotelina.

Especificidad

Mesotelina humana.

Composición Del Reactivo

NCL-L-MESO 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 40 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: 1:20–1:40 durante 60 minutos a 25 °C. Se recomienda realizar recuperación de antígeno a alta temperatura utilizando 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 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%.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAQUI
DIRECTORA TÉCNICA MP 19341
LIC-CLIN. S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA - 1602
VICENTE LOPEZ - 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.

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 mesoteliomas o serosa normal.

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

Control Tisular Negativo

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2739 FLORIDA (1607)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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 (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-MESO 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

<u>Tejidos normales</u>

El clon 5B2 detectó la glicoproteína unida a glicosil-fosfatidilinositol, que es la mesotelina, en la superficie de las células mesoteliales de pulmón periférico, ovario y cordón umbilical. También se observó tinción en las células epiteliales del bronquio y de la amígdala palatina. No se observó tinción en una variedad de otros

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

tejidos normales evaluados (total global n=50).

A.N.M.A.T. FOLIO 88 MESA DE ENTRADA MSP

Tejidos tumorales

El clon 5B2 tiñó 4 de 7 tumores ováricos, 3 de 3 mesoteliomas, 5 de 26 tumores de pulmón, 1 de 20 tumores de mama, 1 de 10 carcinomas de células escamosas, 1 de 5 adenocarcinomas de colon y 1 de 1 colangiocarcinoma. No se observó tinción en una variedad de otros tumores evaluados (n=60).

NCL-L-MESO está recomendado para utilizarse como parte de un panel de anticuerpos a fin de distinguir los mesoteliomas y cistadenocarcinomas ováricos de otros tumores sólidos.

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.

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 / 5435-0175

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. Ordonez NG. Application of mesothelin immunostaining in tumor diagnosis. American Journal of Surgical Pathology. 2003; 27(11):1418–1428.

6. Ordonez NG. Value of mesothelin immunostaining in the diagnosis of mesothelioma. Modern Pathology. 2003; 16(3):192–197.

7. Argani P, Iacobuzio-Donahue C, Ryu B et al. Mesothelin is overexpressed in the vast majority of ductal adenocarcinomas of the pancreas: identification of a new pancreatic cancer marker by serial analysis of gene expression (SAGE). Clinical Cancer Research. 2001; 7(12):3862–3868.

Correcciones A La Publicación Anterior

No aplicable.

Fecha De Publicación

29 de septiembre de 2014

Metodología inmunohistocitoquímica para utilizar anticuerpos NovocastraTM 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.
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

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

1. Incubadora graduada a 25 °C.

2. Olla a Presión de Acero Inoxidable (NovocastraTM 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 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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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.

F. Fecha de publicación

23rd June 2004

- *Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1-L-CE)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-TTF-1 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, del factor 1 de transcripción tiroideo. 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

SPT24

Inmunógeno

Proteína procariótica recombinante, correspondiente a un fragmento de 123 aminoácidos de la región N terminal de la molécula de TTF-1.

Especificidad

Factor 1 de transcripción tiroideo (TTF-1) humano

Composición Del Reactivo

NCL-L-TTF-1 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 108 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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (B1602)
VICENTE LÓPEZ - TEL: 4791-9923 / 5435-0175

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

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. 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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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 tiroideo. 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 amígdala.
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.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19311
BIO-OPTIC S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORID.
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 54

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 de pacientes teñidas con NCL-L-TTF-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 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 SPT24 detectó la proteína factor 1 de transcripción tiroideo en el núcleo de neumocitos del pulmón y en células epiteliales foliculares del tiroides. También se detectó alguna reactividad en las células gliales del cerebro y en las células epiteliales de la laringe. No se observó tinción en otros tejidos normales diversos (cifra total de casos normales =132).

Anormal del tejido

El clon SPT24 tiñó 118/126 enfermedades tiroideas (incluidos 49/49 carcinomas papilares, 16/16 adenomas coloides, 12/12 adenomas fetales, 11/11 adenomas foliculares, 8/11 carcinomas foliculares, 6/7 carcinomas medulares, 4/4 oncocitomas, 4/4 bocios multinodulares, 3/3 tiroiditis de Hashimoto, 2/2 enfermedades de Graves, 1/1 tiroiditis subaguda, 1/1 adenoma, 1/1 adenoma atípico, 0/2 carcinomas indiferenciados y 0/2 linfomas), 40/70 tumores pulmonares (incluidos 20/29 adenocarcinomas, 9/25 carcinomas escamosos, 6/7 carcinomas microcíticos, 5/6 carcinoides atípicos y 0/3 carcinomas macrocíticos), 6/65 trastornos tímicos (incluidos 5/54 timomas, ⅓ carcinomas, 0/4 hiperplasias y 0/4 carcinoides) y 1/23 tumores de colon (incluidos 1/22 adenocarcinomas y 0/1 carcinoma). No se observó tinción en diversos tumores adicionales evaluados, incluidos tumores de la vesícula biliar (0/4), mesoteliomas (0/4), tumores cerebrales (0/3), tumores esofágicos (0/3), tumores gástricos (0/3), tumores pancreáticos (0/3), tumores renales (0/3), tumores de cuello de útero (0/3), tumores mamarios (0/3), tumores de vejiga (0/2), tumores prostáticos (0/2), melanomas (0/2) y feocromocitomas (0/2) (cifra total de casos anormales = 321).

NCL-L-TTF-1 está recomendado para la detección de antígeno factor 1 de transcripción tiroideo en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Limitaciones Generales

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

AN. PA. DAOU
DIRECTORA TÉCNICA MP 10241
LAB. CLÍNICO R.L.
HIPÓL. 2735 (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

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.

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. Unal B, Yildirim S, Sezer C et al. TTF-1 may not be a reliable marker for differentiating metastasis from brain tumors. Turkish Journal of Pathology. 2014; 30(3): 201-205.

6. Klingen TA, Chen Y, Suhrke P et al. Expression of thyroid transcription factor-1 is associated with a basal-like phenotype in breast carcinomas. Diagnostic Pathology. 2013; 8: 80-86.

7. Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda T, et al. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
POPOLI TO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 9439

transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 2012; 136: 155-162.
8. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
9. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
10.Comperat E, Zhang F, Perrotin C, et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
11.Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H, et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121 (3):343-349.

Correcciones A La Publicación Anterior

Resultados esperados; declaración sobre reclamaciones de productos; Bibliografía.

Fecha De Publicación

07 de agosto de 2015

- *CD123 (NCL-L-CD123)*

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CD123 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de CD123. 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
HIPOLITO YRIGOYEN 2785 - FLORID. (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0175

Clon

BR4MS

Inmunógeno

Proteína recombinante procariótica correspondiente a 101 aminoácidos del dominio externo de la molécula CD123 humana.

Especificidad

Humana CD123.

Composición Del Reactivo

NCL-L-CD123 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

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 90 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: 1:100 durante 30 minutos a 25 °C. Recuperación de epítopos inducida por calor con Epitope Retrieval Solution pH9.0 (RE7119).

Visualización: NovolinkTM Polymer Detection Systems RE7280–K (1250 tests), RE7150–K (500 tests), RE7140–K (250 tests) o RE7290–K (50 tests). 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%.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA MP 19341
BIO-OPTIC S.R.L.
APOL. TO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 54...

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.

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 TEC... MP 19341
BIO-OPTIC ... R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - 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.

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-CD123 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

<u>Tejidos normales</u>

El clon BR4MS detectó la proteína CD123 en diversos tejidos, incluidas células de Leydig de los testículos, células dendríticas plasmocitoides y vénulas endoteliales altas de la amígdala palatina, macrófagos

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA - MP 19341
BIO-OPTICS S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA
CLENTE LOPEZ - TEL 4791-9923 / 54...

alveolares de pulmón, sincitiotrofoblastos de la placenta, algunas células epiteliales del colon y algunos leucocitos de la médula ósea. El clon BR4MS también tiñó vasos pequeños, donde existían, en tejidos. (Número total de casos = 49).

Tejidos tumorales

El clon BR4MS detectó la proteína CD123 en 9 de 48 linfomas, incluyendo 3 de 5 leucemias linfoblásticas agudas de células T precursoras, 2 de 2 leucemias mieloides agudas, 1 de 1 leucemia pilosa, 1 de 1 linfoma angioinmunoblástico de célula T, 1 de 2 linfomas anaplásicos de células grandes, 1 de 6 linfomas periféricos de células T. También se detectó tinción en 3 de 3 casos de la enfermedad de Kikuchi y 3 de 3 casos de la enfermedad de Castleman (tipo vascular hialino). No se detectó tinción en linfomas difusos de células B grandes (0 de 12), linfomas foliculares (0 de 6), linfomas de Hodgkin (0 de 5), maltomas (0 de 2), linfomas de células del manto (0 de 2), un linfoma linfoblástico (0 de 1), un linfoma de Burkitt (0 de 1), un linfoma de células B rico en células T (0 de 1) y un linfoma de células NK/T (0 de 1). No se detectó tinción en 44 tumores adicionales analizados, incluidos carcinomas de células escamosas (0 de 9), tumores de glándula tiroidea (0 de 4), tumores de ovario (0 de 4), tumores de hígado (0 de 4), tumores colorrectales (0 de 4), tumores de pulmón (0 de 3), tumores cerebrales (0 de 2), tumores de mama (0 de 2), tumores de estómago (0 de 2), tumores de páncreas (0 de 2), tumores metastásicos no especificados (0 de 2), tumores de riñón (0 de 2), tumores de testículo (0 de 2), un tumor de timo (0 de 1) y un tumor de útero (0 de 1). (Número total de casos = 98).

El NCL-L-CD123 está recomendado para la detección de CD123 en tejidos normales y neoplásicos, en particular para ayudar a identificar neoplasmas de células dendríticas plasmocitoides.

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.

LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

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

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. Garnache–Ottou F, Feuillard J and Saas P. Plasmacytoid dendritic cell leukaemia/lymphoma: towards a well defined entity? British Journal of Haematology. 2007; 136:539–548.

6. Moretti S, Lanza F and Dabusti M et al. CD123 (Interleukin 3 receptor α chain). Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents. 2001; 15:98–100.

Correcciones A La Publicación Anterior

Concentración Total De Proteína.

Fecha De Publicación

07 de junio 2013

Metodología inmunohistoquímica para la utilización de anticuerpos NovocastraTM, en tejidos incluidos en parafina, con la aplicación de la técnica de recuperación de epítopos 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 epítopos (véase la sección C Soluciones para la recuperación de epítopos).

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DADO
DIRECTORA TECNICA
BIO-OPTICA S.R.L.
PARQ. SO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5435-0176

4. Diluyente del anticuerpo, NovocastraTM IHC Diluent, RE7133.

5. Sistema de visualización, NovolinkTM 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 epítopos: baño de agua o de vapor, olla de presión u otro equipo de laboratorio con temperatura controladat.

3. Equipo de laboratorio utilizado generalmente para inmunohistoquímica.

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

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 epítopos

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 NovolinkTM 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.

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

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

F. Fecha de publicación

23 de abril de 2008

A.N.M.A.T. FOLIO 96 MESA DE PP. D. MED.

Lic. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

ANDREA DAOU
DIRECTORA TECNICA - MP 19941
BIO-OPTICS S.R.L.
HIPOLITO YRIGOYEN 2789 - FLORIDA (1602)
VICENTE LOPEZ - TEL. 4791-9923 / 5439-0175

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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2018-38766892-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Viernes 10 de Agosto de 2018

Referencia: 1-47-3110-5167-17-4

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 99 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2018.08.10 17:05:44 -03'00'

Mariano Pablo Manenti
Jefe I
Dirección Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2018.08.10 17:05:48 -03'00'

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 1-47-3110-5167/17-4

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por la firma 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) CALCITONIN (CALCITONIN-L-CE); 2) CALRETININ (CALRET566-L-CE); 3) CD123 (CD123-L-CE); 4) CYTOKERATIN 7 (CK7-OVTL-L-CE); 5) DESMIN (DES-DERII-L-CE); 6) GRANZYME B (GRAN-B-L-CE); 7) Ki67 ANTIGEN (KI67-MM1-L-CE); 8) MELAN A (MELANA-L-CE); 9) MESOTHELIN (MESO-L-CE); 10) MUSCLE SPECIFIC ACTIN (MSA-594-L-CE); 11) MYOGENIN (MYF-4-L-CE); 12) PROTEIN GENE PRODUCT 9.5 (PGP9.5-L-CE); 13) THYROID TRANSCRIPTION FACTOR-1 (TTF-1-L-CE); y 14) CYTOKERATIN MULTI (AE1/AE3-601-L-CE).**

Indicación de uso: ANTICUERPOS MONOCLONALES DISEÑADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DIFERENTES ANTÍGENOS HUMANOS MEDIANTE LAS TÉCNICAS DE TINCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICAS.

Forma de presentación: ENVASES CONTENIENDO: 1 vial x 1.0 ml.

Período de vida útil y condición de conservación: **1), 3), 6) a 12) y 14)** 36 meses, conservado a 2 y 8°C; **4) y 5)** 24 meses, conservado a 2 y 8°C; **2)** 33 meses, conservado a 2 y 8°C y **13)** 18 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-2234-12.

Disposición Nº 0254 19 SET. 2018

Dr. CARLOS CHIALE
Administrador Nacional
A.N.M.A.T.