



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-000079-24-6

---

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-000079-24-6 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody y otros.

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

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

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

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

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

Por ello;

LA ADMINISTRADORA NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

## DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

### DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody y otros, de acuerdo con lo solicitado por Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-39809462-APN-DVPCYAR#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 740-865 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

### DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody y otros.

Marca comercial: VENTANA.

Modelos:

- 1) (N° de catálogo Roche: 05479282001, N° de catálogo Ventana: 790-4366) CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody.
- 2) (N° de catálogo Roche: 05479347001, N° de catálogo Ventana: 790-4365) CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody.
- 3) (N° de catálogo Roche: 05267005001, N° de catálogo Ventana: 760-2513) CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) Primary Antibody.
- 4) (N° de catálogo Roche: 05278104001, N° de catálogo Ventana: 790-2914) CONFIRM anti S-100 (4C4.9)

#### Primary Antibody.

- 5) (N° de catálogo Roche: 05267919001, N° de catálogo Ventana: 760-2680) FITC Anti-IgG Primary Antibody.
- 6) (N° de catálogo Roche: 05267927001, N° de catálogo Ventana: 760-2681) FITC Anti-IgA Primary Antibody.
- 7) (N° de catálogo Roche: 05267935001, N° de catálogo Ventana: 760-2682) FITC Anti-IgM Primary Antibody.
- 8) (N° de catálogo Roche: 05267943001, N° de catálogo Ventana: 760-2683) FITC Anti-Kappa Primary Antibody.
- 9) (N° de catálogo Roche: 05267951001, N° de catálogo Ventana: 760-2684) FITC Anti-Lambda Primary Antibody.
- 10) (N° de catálogo Roche: 05267960001, N° de catálogo Ventana: 760-2685) FITC Anti-Fibrinogen Primary Antibody.
- 11) (N° de catálogo Roche: 05267978001, N° de catálogo Ventana: 760-2686) FITC Anti-C3 Primary Antibody.
- 12) (N° de catálogo Roche: 05267994001, N° de catálogo Ventana: 760-2688) FITC anti-C1q Primary Antibody.
- 13) (N° de catálogo Roche: 05268087001, N° de catálogo Ventana: 760-2699) FITC Anti-Albumin Primary Antibody.

#### Indicación/es de uso:

- 1) El anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la proteína de premelanosoma (PMEL) mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.
- 2) El anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la tirosinasa mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.
- 3) El anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la desmina mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.
- 4) El anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) Primary Antibody es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la proteína S100 mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.
- 5) FITC anti-IgG (immunoglobulin G) Primary Antibody es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgG humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina G en tejidos diana de la IgG (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgG está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.
- 6) FITC anti-IgA (immunoglobulin A) Primary Antibody es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgA humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina A en tejidos diana de la IgA (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgA está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.
- 7) FITC anti-IgM (immunoglobulin M) Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgM humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina M en tejidos diana de la IgM (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgM está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

8) FITC anti-Kappa Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra las cadenas ligeras kappa de las inmunoglobulinas humanas. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de las cadenas kappa en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Kappa está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

9) Anticuerpo policlonal de burro marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra las cadenas ligeras lambda humanas. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de las cadenas lambda en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Lambda está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

10) FITC anti-Fibrinogen Primary Antibody de Ventana Medical Systems (Ventana®) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el fibrinógeno humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del fibrinógeno en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Fibrinogen está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

11) Anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el C3 humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del componente 3 del complemento en tejidos diana para el C3 (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-C3 está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

12) FITC anti-C1q (complement 1q) Primary Antibody de Ventana Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el C1q humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del componente 1q del complemento en tejidos diana para el C1q (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-C1q está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

13) FITC anti-Albumin Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la albúmina humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de la albúmina humana en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Albumin está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

Forma de presentación: 1) a 13) Envases por 50 determinaciones, conteniendo: un dispensador x 5 ml de anticuerpo.

Período de vida útil y condición de conservación: 1) a 13) 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 - 8 °C.

Nombre del fabricante:

Ventana Medical Systems Inc.

Lugar de elaboración:

Ventana Medical Systems Inc. 1910 E. Innovation Park Dr. Tucson, AZ 85711, USA.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

N° 1-0047-3110-000079-24-6

N° Identificador Trámite: 55609

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María  
Date: 2024.04.24 18:49:26 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL  
ELECTRONICA - GDE  
Date: 2024.04.24 18:49:28 -03:00

## PROYECTO DE ROTULO

### 1) CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody (N° de catálogo: 05479282001)

  
**CONFIRM**  
**anti-Melanosome (HMB45)**  
**Mouse Monoclonal**  
**Primary Antibody**  
 5 mL (~0.5 µg/mL)

**REF** (92) 790-4366  
**LOT** (10) A99999  
**GTIN** (01) 04015630972449  
 2099-11-15  $\Sigma$  50  
 2091-12-25  
 (240) 05479282001 -Roche #  
 **UDI** 2°C-8°C  
 Rx Only **IVD**  0123  
  
 790-4366A99999 0001

  
**CONFIRM anti-Melanosome**  
**(HMB45) Mouse Monoclonal**  
**Primary Antibody**  
 5 mL (~0.5 µg/mL)

Ventana Medical Systems, Inc.  
 1910 E. Innovation Park Drive  
 Tucson, Arizona 85755 USA

  
**REF** (92) 790-4366  2099-11-15  
**UDI** **LOT** (10) A99999  
**GTIN** (01) 04015630972449  
 **IVD**  $\Sigma$  50 2°C-8°C

### 2) CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody (N° de catálogo: 05479347001)

  
**CONFIRM**  
**anti-Tyrosinase (T311)**  
**Mouse Monoclonal**  
**Primary Antibody**  
 5 mL (~0.8 µg/mL)

**REF** (92) 790-4365  
**LOT** (10) A99999  
**GTIN** (01) 04015630972470  
 2099-11-15  $\Sigma$  50  
 2091-12-25  
 (240) 05479347001 -Roche #  
 **UDI** 2°C-8°C  
 Rx Only **IVD**  0123  
  
 790-4365A99999 0001

  
**CONFIRM anti-Tyrosinase**  
**(T311) Mouse Monoclonal**  
**Primary Antibody**  
 5 mL (~0.8 µg/mL)

Ventana Medical Systems, Inc.  
 1910 E. Innovation Park Drive  
 Tucson, Arizona 85755 USA

  
**REF** (92) 790-4365  2099-11-15  
**UDI** **LOT** (10) A99999  
**GTIN** (01) 04015630972470  
 **IVD**  $\Sigma$  50 2°C-8°C

3) CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) Primary Antibody (N° de catálogo: 05267005001)

**VENTANA**® Roche

**CONFIRM**  
**anti-Desmin (DE-R-11)**  
**Primary Antibody**  
 5 mL (~5 µg/mL)

**REF** (92) 760-2513  
**LOT** (10) A99999  
**GTIN** (01) 04015630971237

2099-11-15 50  
 2091-12-25

(240) 05267005001 -Roche #

**UDI** 8°C  
 2°C

Rx Only **IVD** 0123

760-2513A99999 0001

**VENTANA**® Roche

**CONFIRM anti-Desmin**  
**(DE-R-11) Primary Antibody**  
 5 mL (~5 µg/mL)

**UDI** 8°C  
 2°C

**GTIN** (01) 04015630971237  
**LOT** (10) A99999  
 (17) 2099-11-15 **IVD** 50

Roche # (240) 05267005001  
**REF** (92) 760-2513

Ventana Medical Systems, Inc.  
 1910 E. Innovation Park Drive  
 Tucson, Arizona 85735 USA

4) CONFIRM anti-S100 (4C4.9) Primary Antibody (N° de catálogo: 05278104001)

**VENTANA**® Roche

**CONFIRM**  
**anti-S100 (4C4.9)**  
**Primary Antibody**  
 5 mL (~10 µg/mL)

**REF** (92) 790-2914  
**LOT** (10) A99999  
**GTIN** (01) 04015630971787

2099-11-15 50  
 2091-12-25

(240) 05278104001 -Roche #

**UDI** 8°C  
 2°C

Rx Only **IVD** 0123

790-2914A99999 0001

**VENTANA**® Roche

**CONFIRM anti-S100 (4C4.9)**  
**Primary Antibody**  
 5 mL (~10 µg/mL)

**UDI** 8°C  
 2°C

**REF** (92) 790-2914 2099-11-15  
**LOT** (10) A99999  
**GTIN** (01) 04015630971787

**IVD** 50

Ventana Medical Systems, Inc.  
 1910 E. Innovation Park Drive  
 Tucson, Arizona 85735 USA

Farm. ROBERTA MILE MAZZA  
 PRODUCES ROCHE S.A. de I.  
 Division Diagnostica  
 DT & APODERADA LEGAL

5) FITC Anti-IgG Primary Antibody (N° de catálogo: 05267919001)

**VENTANA®**

**FITC Anti-IgG  
Primary Antibody**  
5 mL (~163.4 µg/mL)

REF 760-2680  
GTIN 04015630971497  
LOT A99999

2099-01-01 CE  
2099-01-01 IVD

(240) 05267919001 -Roche #

50  
2°C 8°C

760-2680A99999 0001

**VENTANA®**

**FITC Anti-IgG  
Primary Antibody**  
5 mL (~163.4 µg/mL)

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

50  
2°C 8°C

REF 760-2680  
LOT A12345  
2015-12-28  
GTIN 04015630971497

2°C 8°C

6) FITC Anti-IgA Primary Antibody (N° de catálogo: 05267927001)

**VENTANA®**

**FITC Anti-IgA  
Primary Antibody**  
5 mL (~37.6 µg/mL)

REF 760-2681  
GTIN 04015630971503  
LOT A99999

2099-01-01 CE  
2099-01-01 IVD

(240) 05267927001 -Roche #

50  
2°C 8°C

760-2681A99999 0001

**VENTANA®**

**FITC Anti-IgA  
Primary Antibody**  
5 mL (~37.6 µg/mL)

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

50  
2°C 8°C

REF 760-2681  
LOT A12345  
2015-12-28  
GTIN 04015630971503

2°C 8°C

arm. ROBERTA MILE MAZZA  
RODOLFO LOS ROCHE S.A. de I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

7) FITC Anti-IgM Primary Antibody (N° de catálogo: 05267935001)

**VENTANA®**

**FITC Anti-IgM  
Primary Antibody**  
5 mL (~163.4 µg/mL)

REF 760-2682  
GTIN 04015630971510  
LOT A99999

2099-01-01 CE  
2099-01-01 IVD

(240) 05267935001 -Roche #

50  
2°C 8°C

760-2682A99999 0001

**VENTANA®**

**FITC Anti-IgM  
Primary Antibody**  
5 mL (~163.4 µg/mL)

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

REF 760-2682  
LOT A12345  
IVD 2015-12-28  
GTIN 04015630971510

50  
2°C 8°C

8) FITC Anti-Kappa Primary Antibody (N° de catálogo: 05267943001)

**VENTANA®**

**FITC Anti-Kappa  
Primary Antibody**  
5 mL (~0.28 µg/mL)

REF 760-2683  
GTIN 04015630971527  
LOT A99999

2099-01-01 CE  
2099-01-01 IVD

(240) 05267943001 -Roche #

50  
2°C 8°C

760-2683A99999 0001

**VENTANA®**

**FITC Anti-Kappa  
Primary Antibody**  
5 mL (~0.28 µg/mL)

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

REF 760-2683  
LOT A12345  
IVD 2015-12-28  
GTIN 04015630971527

50  
2°C 8°C

Farm. ROBERTA MILE MAZZA  
PRODUCES ROCHE S.A. e.l.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

9) FITC Anti-Albumin Primary Antibody (N° de catálogo: 05268087001)

**VENTANA®**

**FITC Anti-Albumin  
Primary Antibody**  
5 mL (~0.05 µg/mL)

REF 760-2699  
GTIN 04015630971480  
LOT A99999

2099-01-01   
2099-01-01 

(240) 05268087001 -Roche #

  50  
2°C  8°C

  
760-2699A99999 0001

**VENTANA®**

**FITC Anti-Albumin  
Primary Antibody**  
5 mL (~0.05 µg/mL)

  REF 760-2699  
LOT A12345  50  
IVD  2015-12-28  8°C  
GTIN 04015630971480 2°C 

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

10) FITC anti-Lambda Primary Antibody (N° de catálogo: 05267951001)

**VENTANA®**

**FITC anti-Lambda  
Primary Antibody**  
5 mL (~20 µg/mL)

REF 760-2684  
GTIN 04015630971534  
LOT A99999

2099-01-01   
2099-01-01 

(240) 05267951001 -Roche #

  50  
2°C  8°C

  
760-2684A99999 0001

**VENTANA®**

**FITC anti-Lambda  
Primary Antibody**  
5 mL (~20 µg/mL)

  REF 760-2684  
LOT A12345  50  
IVD  2015-12-28  8°C  
GTIN 04015630971534 2°C 

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

Farm. ROBERTA MILE MAZZA  
PRODUCIOS ROCHE S.A. de I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

11) FITC Anti-Fibrinogen Primary Antibody (N° de catálogo: 05267960001)

 **VENTANA®**

**FITC Anti-Fibrinogen  
Primary Antibody**  
5 mL (~1.4 µg/mL)

REF 760-2685  
GTIN 04015630971442  
LOT A99999

 2099-01-01   
 2099-01-01 

(240) 05267960001 -Roche #

  50  
 2°C  8°C

  
760-2685A99999 0001

 **VENTANA®**

**FITC Anti-Fibrinogen  
Primary Antibody**  
5 mL (~1.4 µg/mL)

    REF 760-2685  
LOT A12345  50  
IVD  2015-12-28  8°C  
GTIN 04015630971442  2°C  8°C



Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

12) FITC Anti-C3 Primary Antibody (N° de catálogo: 05267978001)

 **VENTANA®**

**FITC Anti-C3  
Primary Antibody**  
5 mL (~88 µg/mL)

REF 760-2686  
GTIN 04015630971459  
LOT A99999

 2099-01-01   
 2099-01-01 

(240) 05267978001 -Roche #

  50  
 2°C  8°C

  
760-2686A99999 0001

 **VENTANA®**

**FITC Anti-C3  
Primary Antibody**  
5 mL (~88 µg/mL)

    REF 760-2686  
LOT A12345  50  
IVD  2015-12-28  8°C  
GTIN 04015630971459  2°C  8°C



Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

Farm. ROBERTA MIGLE MAZZA  
PRODUCED BY ROCHE S.A. d.e.t.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

13) FITC anti-C1q Primary Antibody (N° de catálogo: 05267994001)

 **VENTANA®**

**FITC anti-C1q  
Primary Antibody**  
5 mL (~66.6 µg/mL)

REF 760-2688  
GTIN 04015630971473  
LOT A99999

 2099-01-01   
 2099-01-01 

(240) 05267994001 -Roche #

  50  
 2°C  8°C

  
760-2688A99999 0001

 **VENTANA®**

**FITC anti-C1q  
Primary Antibody**  
5 mL (~66.6 µg/mL)

REF 760-2688  
LOT A12345  
IVD  2015-12-28  
GTIN 04015630971473

   50  
 2°C  8°C



Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755 USA

DT.: Farm. R. Mele Mazza.  
Productos Roche S.A.Q. e I.  
(División Diagnóstica).  
Otto Krause 4211 (CP1667)  
Bs As, Arg. Producto autorizado  
por ANMAT PM-740-865  
Uso profesional exclusivo

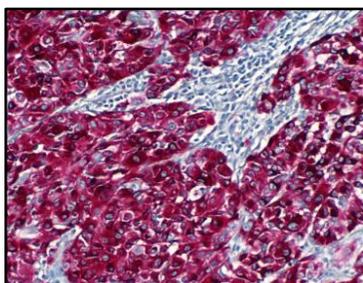
Farm. ROBERTA MELE MAZZA  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
División Diagnóstica  
DT & APODERADA LEGAL

## CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody

**REF** 790-4366

05479282001

**IVD**  50



**Figura 1. Tinción de melanoma con el anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45).**

cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Human melanoma black (HMB45) es un anticuerpo monoclonal dirigido contra la glucoproteína transmembrana de tipo 1 de 100 kDa, la proteína de premelanosoma (PMEL). La proteína PMEL se ha descubierto en varios contextos y, como resultado, se ha denominado de diferentes maneras, aunque las más habituales son gp100, PMEL17, SILV y SI.<sup>1,2</sup> La proteína PMEL es la responsable de la formación de láminas fibrilares en los melanosomas en etapas tempranas.<sup>3,4</sup> Las láminas fibrilares sirven como un patrón sobre el que se depositan los polímeros de melanina en los melanosomas en etapas más avanzadas.<sup>2,4</sup> Los empalmes alternativos generan cuatro isoformas de PMEL, que reaccionan en su totalidad a los anticuerpos monoclonales más habituales en los ensayos de IHC.<sup>2-7</sup> En aquellos animales que carecen de expresión de PMEL o con expresiones de variantes de mutación PMEL se observan diferentes niveles de hipopigmentación y de melanocitos inviables, lo que indica que las microfibrillas PMEL son necesarias para el desarrollo óptimo de la función de los melanocitos.<sup>3,4,8,9</sup>

La expresión de PMEL se limita a las células de estirpe melanocítica. La expresión de PMEL se observa en los melanocitos cutáneos fetales y en el epitelio pigmentario de la retina infantil y durante el embarazo.<sup>10,11</sup> Sin embargo, no se presenta en las células de nevus intradérmicos o melanocitos normales adultos, independientemente del grado de pigmentación.<sup>12,13</sup> La expresión de PMEL se observa en el citoplasma de células melanocíticas neoplásicas, entre otras, las células de nevus de unión y los melanomas malignos.<sup>13</sup> Se sugiere que los anticuerpos específicos para PMEL detectan los epítomos cuya expresión se observa únicamente en melanocitos proliferantes, tanto benignos como malignos, lo que explica el motivo por el que los melanocitos fetales y malignos, que son células proliferativas, reaccionan con los anticuerpos PMEL mientras que los melanocitos adultos no lo hacen.<sup>13</sup> Otros estudios indican que el inmunomarcaje con PMEL se reduce en los melanosomas maduros, lo que sugiere que la sedimentación de melanina en los melanosomas de etapas más avanzadas enmascararían los epítomos de PMEL en las láminas fibrilares.<sup>2,4</sup>

La detección de la proteína PMEL mediante inmunohistoquímica (IHC) con CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody (anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45)) puede servir como marcador melanocítico y contribuir al diagnóstico diferencial de los tumores melanocíticos frente a aquellos que no lo son. Se puede utilizar como parte de un panel de estudios de IHC. El patrón de tinción es citoplasmática.

### USO PREVISTO

El anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la proteína de premelanosoma (PMEL) mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) se une a los melanosomas en los melanocitos activos. Este anticuerpo puede visualizarse mediante *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (n.º de cat. 760-501 / 05269814001). Consulte la hoja de datos correspondiente para obtener más información.

### MATERIAL SUMINISTRADO

El anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL del anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) contiene aproximadamente 2.5 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón.

El anticuerpo se diluye en Tris-HCl con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.

La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 0.5 µg/mL. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

Existen trazas (~2 %) de suero bovino fetal con origen en Estados Unidos de la solución de partida.

Consulte en la hoja de datos correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Material y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Negative Control (Monoclonal) (n.º cat. 760-2014 / 05266670001)
4. *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (n.º cat. 760-501 / 05269814001)
5. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
6. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
7. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
8. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
9. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
10. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
11. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
12. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
13. Medio de montaje permanente
14. Cubreobjetos de cristal
15. Montador automático
16. Equipo de laboratorio de uso general
17. Instrumento BenchMark IHC/ISH

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese entre 2 y 8 °C. No lo congele.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpos tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

### PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos fijados con formol y embebidos en parafina (FFPE) que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.<sup>14</sup> Las secciones de tejido se deben cortar con un grosor aproximado de 4 µm y colocarse en portaobjetos cargados

positivamente. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de las secciones de tejido puede disminuir con el tiempo. Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Recommended Slide Storage and Handling» para obtener más información al respecto.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
6. Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
7. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.<sup>15,16</sup>
8. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
9. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
10. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com).
11. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
12. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
13. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este anticuerpo o ensayo contiene componentes clasificados como sigue de acuerdo con la Normativa (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Este producto contiene CAS n.º 55965-84-9, una masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

### PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte la Tabla 2 para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos. Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Para obtener más información sobre el uso correcto de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociado con P/N 790-4366.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) con *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento o del antígeno)	CC1, Bajo	CC1, Bajo	ULTRA CC1, Bajo
Anticuerpo (Primario)	8 minutos, 37 °C	8 minutos, 37 °C	8 minutos, 36 °C
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, el acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del lector. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances».<sup>17</sup>

### CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Además de la tinción con el anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45), se debe teñir un segundo portaobjetos con el reactivo de control negativo correspondiente.

### CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado para el control de calidad. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos y los instrumentos, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de prueba. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

El control positivo recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) (tal y como se muestra en la imagen superior) es HMB45 positivo en melanoma previamente caracterizado. Los melanocitos cutáneos activados que suele contener la piel son también controles útiles.

## INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El patrón de tinción celular del anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) es citoplasmático.

### LIMITACIONES ESPECÍFICAS

Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

#### RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

#### Sensibilidad y especificidad

**Tabla 3.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) se determinó analizando tejidos normales FFPE.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Cerebro	0/3	Timo	0/3
Cerebelo	0/3	Mieloide (médula ósea)	0/3
Glándula suprarrenal	0/3	Pulmón	0/3
Ovario	0/3	Corazón	0/3
Páncreas	0/3	Esófago	0/3
Glándula paratiroidea	0/3	Estómago	0/3
Hipófisis	0/3	Intestino delgado	0/3
Testículos	0/3	Colon	0/3
Tiroides	0/3	Hígado	0/3
Mama	0/3	Glándula salival	0/3
Bazo	0/3	Riñón	0/3
Ganglio linfático	0/3	Vejiga	0/3
Amígdala	0/3	Próstata	0/3
Endometrio	0/3	Cuello del útero	0/3
Músculo esquelético	0/3	Piel	12/43
Nervio	0/3	Mesotelio	0/3

**Tabla 4.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos FFPE.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma (cerebro)	0/2
Meningioma (cerebro)	0/1
Oligodendroglioma (cerebro)	0/1
Carcinoma endometriode (ovario)	0/1
Adenocarcinoma mucinoso (ovario)	0/1
Neoplasia neuroendocrina (páncreas)	0/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Seminoma (testículos)	0/1
Carcinoma embrionario (testículos)	0/1
Carcinoma medular (tiroides)	0/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/2
Linfoma de linfocitos B; sin especificar (bazo)	0/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (estómago)	0/1
Adenocarcinoma (intestino delgado)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (intestino delgado)	0/1
Adenocarcinoma (colon)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (colon)	0/1
Adenocarcinoma (recto)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (recto)	0/1
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/1
Hepatoblastoma (hígado)	0/1
Carcinoma de células claras (riñón)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	0/2
Leiomiocarcinoma (útero)	0/1
Adenocarcinoma (útero)	0/1
Carcinoma de células claras (útero)	0/1
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	0/2
Rabdomiosarcoma embrionario (músculo estriado)	0/1
Melanoma <sup>a</sup>	130/149
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Neurofibroma (nervios)	0/1
Neuroblastoma (retroperitoneo)	0/1
Mesotelioma (peritoneo)	0/1
Linfoma de linfocitos B, sin especificar (ganglio linfático)	0/2
Linfoma de Hodgkin (ganglio linfático)	0/1
Linfoma anaplásico de células grandes (ganglio linfático)	0/1
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/1
Leiomiocarcinoma (vejiga)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Osteosarcoma	0/1
Rabdomiosarcoma polimorfo (peritoneo)	0/1
Leiomiomasarcoma (músculo liso)	0/1
Angiomiolipoma	20/20

<sup>a</sup> Se analizaron varios órganos, entre otros, la piel, el ganglio linfático y el recto.

### Precisión

Se llevaron a cabo estudios de precisión con el anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) para demostrar:

- La precisión entre lotes del anticuerpo.
- La precisión dentro de la sesión y entre días en un instrumento BenchMark ULTRA.
- La precisión entre instrumentos en los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.
- La precisión entre plataformas entre los instrumentos BenchMark XT, BenchMark GX y BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

Se demostró la precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos. Entre los estudios que se llevaron a cabo figuraban la repetibilidad entre sesiones y la precisión intermedia entre días y entre análisis. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

### RENDIMIENTO CLÍNICO

Los datos de rendimiento clínico pertinentes para el uso previsto del anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) se evaluaron mediante revisión sistemática de la documentación oportuna. Los datos obtenidos respaldan la utilización del dispositivo de acuerdo con su uso previsto.

### REFERENCIAS

1. Louros NN, Baltoumas FA, Hamdrakas SJ, Iconomidou VA. A beta-solenoid model of the Pmel17 repeat domain: insights to the formation of functional amyloid fibrils. *J Comput Aided Mol Des.* 2016;30(2):153-164.
2. Theos AC, Truschel ST, Raposo G, Marks MS. The Silver locus product Pmel17/gp100/Silv/ME20: controversial in name and in function. *Pigment Cell Res.* 2005;18(5):322-336.
3. Bissig C, Rochin L, van Niel G. PMEL Amyloid Fibril Formation: The Bright Steps of Pigmentation. *Int J Mol Sci.* 2016;17(9).
4. Watt B, van Niel G, Raposo G, Marks MS. PMEL: a pigment cell-specific model for functional amyloid formation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2013;26(3):300-315.
5. College of American Pathologists (CAP) Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Melanoma of the Skin. 2017.
6. Adema GJ, de Boer AJ, Vogel AM, Loenen WA, Figdor CG. Molecular characterization of the melanocyte lineage-specific antigen gp100. *J Biol Chem.* 1994;269(31):20126-20133.
7. Nichols SE, Harper DC, Berson JF, Marks MS. A novel splice variant of Pmel17 expressed by human melanocytes and melanoma cells lacking some of the internal repeats. *J Invest Dermatol.* 2003;121(4):821-830.
8. Hellstrom AR, Watt B, Fard SS, et al. Inactivation of Pmel alters melanosome shape but has only a subtle effect on visible pigmentation. *PLoS Genet.* 2011;7(9):e1002285.
9. Theos AC, Berson JF, Theos SC, et al. Dual loss of ER export and endocytic signals with altered melanosome morphology in the silver mutation of Pmel17. *Mol Biol Cell.* 2006;17(8):3598-3612.
10. Kapur RP, Bigler SA, Skelly M, Gown AM. Anti-melanoma monoclonal antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. *J Histochem Cytochem.* 1992;40(2):207-212.
11. Ordonez NG. Value of melanocytic-associated immunohistochemical markers in the diagnosis of malignant melanoma: a review and update. *Human Pathology.* 2014;45(2):191-205.

12. Esclamado RM, Gown AM, Vogel AM. Unique proteins defined by monoclonal antibodies specific for human melanoma. Some potential clinical applications. *Am J Surg.* 1986;152(4):376-385.
13. Gown AM, Vogel AM, Hoak D, Gough F, McNutt MA. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. *Am J Pathol.* 1986;123(2):195-203.
14. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
15. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
16. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
17. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

**NOTA:** En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

### Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte en [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com) la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el dispositivo médico a la Unión Europea

### HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
D	Se han actualizado las secciones Preparación de muestras, Advertencias y precauciones, Procedimiento de tinción, Control de reactivo negativo, Rendimiento de análisis, Símbolos e Información de contacto. Se ha añadido el instrumento BenchMark ULTRA PLUS.

### PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView* y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

Farm. ROBERTA MILEAZZA  
PRODUCES OF ROCHE S.A. Q.e.L.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

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

[www.roche.com](http://www.roche.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany  
+800 5505 6606



Farm. ROBERTA HILLI MOZZA  
PRODUCES ROCHE S.A. G e L.  
Division Diagnostics  
DT & APODERADA LEGAL

## CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody

**REF** 790-4365  
05479347001

**IVD**  50

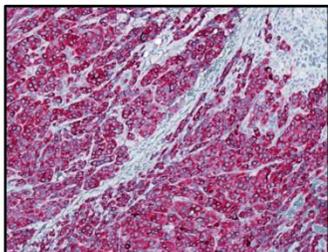


Figura 1. Tinción de melanoma con el anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311).

### USO PREVISTO

El anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la tirosinasa mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La tirosinasa es una proteína citoplasmática 70-80 kDa que pertenece a la familia oxígeno-oxidoreductasa.<sup>1,2</sup> La tirosinasa es la enzima principal necesaria para convertir el aminoácido tirosina en melanina. Durante el proceso, la tirosinasa actúa como catalizador de la hidroxilación de la L-tirosinasa para transformarla en L-dopa y de la oxidación de L-dopa que genera L-dopaquinona.<sup>1</sup> La expresión de la tirosinasa se observa en melanocitos y en epitelios pigmentados de la retina, del iris y del cuerpo ciliar del ojo.<sup>1,3</sup> Su expresión también se detecta en lesiones benignas y malignas derivadas de este tipo de células, como nevos benignos y la mayor parte de melanomas malignos primarios y metastásicos.<sup>1</sup>

La detección de la tirosinasa mediante inmunohistoquímica (IHC) con CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody (anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311)) puede servir como marcador melanocítico para contribuir al diagnóstico diferencial de tumores melanocíticos frente a aquellos que no lo son. Se puede utilizar como parte de un panel de estudios de IHC. El patrón de tinción es citoplasmática.

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) se une a la tirosinasa en los melanocitos activos. Este anticuerpo puede visualizarse mediante *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (n.º de cat. 760-501 / n.º de pedido 05269814001). Consulte la hoja de datos correspondiente para obtener más información.

### MATERIAL SUMINISTRADO

El anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) contiene reactivo suficiente para teñir 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL de anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) contiene aproximadamente 4 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón generado como sobrenadante de un cultivo celular.

El anticuerpo se diluye en un tampón formado por Tris-HCl con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.

La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 0.8 µg/mL. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

Existen trazas (aproximadamente el 2 %) de albúmina de suero bovino con origen en EE. UU. de la solución de partida.

Consulte en la hoja de datos correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Material y métodos, Recogida y

preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Negative Control (Monoclonal) (n.º cat. 760-2014 / 05266670001)
4. *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (n.º cat. 760-501 / 05269814001)
5. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
6. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
7. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
8. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
9. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
10. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
11. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
12. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
13. Medio de montaje permanente
14. Cubreobjetos de cristal
15. Montador automático
16. Equipo de laboratorio de uso general
17. Instrumento BenchMark IHC/ISH

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese entre 2 y 8 °C. No lo congele.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpos tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

### PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos fijados con formol y embebidos en parafina (FFPE) que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.<sup>4</sup> Las secciones de tejido se deben cortar con un grosor aproximado de 4 µm y colocarse en portaobjetos cargados positivamente. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo. Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Recommended Slide Storage and Handling» para obtener más información al respecto.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
6. Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su

- representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
- Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.<sup>5,6</sup>
  - Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
  - Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
  - Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios, que se encuentran en [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com).
  - Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
  - El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
  - Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de acuerdo con la Normativa (CE) n.º 1272/2008:

**Tabla 1.** Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Este producto contiene CAS n.º 55965-84-9, masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

### PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte la Tabla 2 para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos. Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Para obtener más información sobre el uso correcto de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociado con P/N 790-4365.

Farm. ROBERTA NILE MAZZA  
PRODUCES OF ROCHE S.A. e.l.  
Division Diagnostica  
DT & APODADA LEGAL

**Tabla 2.** Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) con *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, Estándar	CC1, Estándar	ULTRA CC1, Estándar
Anticuerpo (Primario)	8 minutos, 37 °C	8 minutos, 37 °C	8 minutos, 36 °C
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, el acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del lector. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances».<sup>7</sup>

### CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Además de la tinción con el anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311), se debe teñir un segundo portaobjetos con el reactivo de control negativo correspondiente.

### CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado para el control de calidad. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos y los instrumentos, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de prueba. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

El tejido de control positivo recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) es el melanoma positivo a tirosinasa caracterizado previamente (tal y como se muestra en la imagen que aparece más arriba).

### INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El patrón de tinción celular del anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) es citoplasmática.

### LIMITACIONES ESPECÍFICAS

Es posible que la tinción de las necrosis que a menudo están presentes en los melanomas no sea específica.

Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

#### RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Es posible que se observe una tinción positiva en los melanocitos normales activos de casos neoplásicos y no neoplásicos. Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

### Sensibilidad y especificidad

**Tabla 3.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) se determinó analizando tejidos normales FFPE.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Cerebro	0/3	Timo	0/3
Cerebelo	0/3	Mieloide (médula ósea)	0/3
Glándula suprarrenal	0/3	Pulmón	0/3
Ovario	0/3	Corazón	0/3
Páncreas	0/3	Esófago	0/3
Glándula paratiroidea	0/3	Estómago	0/3
Hipófisis	3/3	Intestino delgado	0/3
Testículos	0/3	Colon	0/3
Tiroides	0/3	Hígado	0/3
Mama	0/3	Glándula salival	0/3
Bazo	0/3	Vejiga	0/3
Amígdala	0/3	Riñón	0/3
Endometrio	0/3	Próstata	0/3
Músculo esquelético	0/3	Cuello del útero	0/3
Nervio	0/3	Piel	45/45
Ganglio linfático	0/3	Mesotelio	0/3

**Tabla 4.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos FFPE.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma (cerebro)	0/2
Meningioma (cerebro)	0/1
Oligodendroglioma (cerebro)	0/1
Carcinoma endometriode (ovario)	0/1
Adenocarcinoma mucinoso (ovario)	0/1
Neoplasia neuroendocrina (páncreas)	0/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1
Seminoma (testículos)	0/1
Carcinoma embrionario (testículos)	0/1
Carcinoma medular (tiroides)	0/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal In situ (DCIS) (mama)	0/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/2
Linfoma de linfocitos B; sin especificar (bazo)	0/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (estómago)	0/1
Adenocarcinoma (intestino delgado)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (intestino delgado)	0/1
Adenocarcinoma (colon)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (colon)	0/1
Adenocarcinoma (recto)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (recto)	0/1
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/1
Hepatoblastoma (hígado)	0/1
Carcinoma de células claras (riñón)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	0/2
Leiomiocarcinoma (útero)	0/1
Adenocarcinoma (útero)	0/1
Carcinoma de células claras (útero)	0/1
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	0/2
Rabdiosarcoma embrionario (músculo estriado)	0/1
Melanoma <sup>a</sup>	130/150
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Neurofibroma (nervios)	0/1
Neuroblastoma (retroperitoneo)	0/1
Rabdiosarcoma polimorfo (retroperitoneo)	0/1
Mesotelioma (peritoneo)	0/1
Linfoma de linfocitos B, sin especificar (ganglio linfático)	0/1
Linfoma anaplásico de células grandes (ganglio linfático)	0/1
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/1
Leiomiocarcinoma (vejiga)	0/1
Osteosarcoma	0/1
Leiomiocarcinoma (músculo liso)	0/1

<sup>a</sup> Se analizaron varios órganos, entre otros, la piel, el ganglio linfático y el recto.

### Precisión

Se llevaron a cabo estudios de precisión con el anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) para demostrar:

- La precisión entre lotes del anticuerpo.
- La precisión dentro de la sesión y entre días en un instrumento BenchMark ULTRA.

- La precisión entre instrumentos en los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.
- La precisión entre plataformas entre los instrumentos BenchMark XT, BenchMark GX y BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

Se demostró la precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos. Entre los estudios que se llevaron a cabo figuraban la repetibilidad entre sesiones y la precisión intermedia entre días y entre análisis. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

## RENDIMIENTO CLÍNICO

Los datos de rendimiento clínico pertinentes para el uso previsto del anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) se evaluaron mediante revisiones sistemáticas de la documentación pertinente. Los datos obtenidos respaldan la utilización del dispositivo de acuerdo con su uso previsto.

## REFERENCIAS

1. Ordonez NG. Value of melanocytic-associated immunohistochemical markers in the diagnosis of malignant melanoma: a review and update. *Human Pathology*. 2014;45(2):191-205.
2. Haldys K, Latajka R. Thiosemicarbazones with tyrosinase inhibitory activity. *Medchemcomm*. 2019;10(3):378-389.
3. Jungbluth AA, Iversen K, Coplan K, et al. T311—an anti-tyrosinase monoclonal antibody for the detection of melanocytic lesions in paraffin embedded tissues. *Pathol Res Pract*. 2000;196(4):235-242.
4. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
5. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
6. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
7. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

**NOTA:** En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

## Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte en [dialog. Roche.com](http://dialog. Roche.com) la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el dispositivo médico a la Unión Europea

## HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
D	Se han actualizado las secciones Preparación de muestras, Advertencias y precauciones, Procedimiento de tinción, Control de reactivo negativo, Rendimiento de análisis, Símbolos e Información de contacto. Se ha añadido el instrumento BenchMark ULTRA PLUS.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView* y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

## INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

[www.roche.com](http://www.roche.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany  
+800 5505 6606



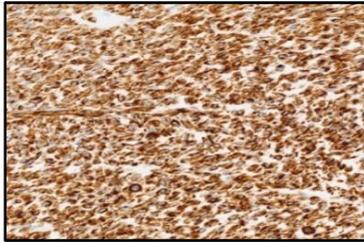
Farm. ROBERTA MILE MOZZA  
PRODUCES ROCHÉ S.A. C.e.l.  
Division Químico  
DT & APODARADA LEGAL

## CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) Primary Antibody

**REF** 760-2513

05267005001

**IVD** 50



**Figura 1. Tinción del leiomiosarcoma con el anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11)**

### USO PREVISTO

El anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la desmina mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La desmina es una proteína de filamento intermedio de tipo III y 53 kDa codificada por el gen DES y ubicada en el cromosoma 2 (2q35), cuya expresión se observa, principalmente, en las células musculares.<sup>1,2,3</sup> La desmina es uno de los primeros componentes estructurales del músculo en aparecer durante la miogénesis y se observan bajos niveles de su expresión en el miotoma de las somitas, que regulan la diferenciación durante la embriogénesis.<sup>2,3,4</sup> En condiciones fisiológicas normales, la expresión de la desmina en las células musculares diferenciadas se produce en los discos Z del músculo esquelético y en los cuerpos citoplasmáticos densos del músculo liso.<sup>2,3,4</sup>

Las neoplasias de la estirpe miogénica (como el músculo esquelético y el músculo liso), como el leiomioma, leiomiomasarcoma y el rabdosarcoma, se encuentran entre las neoplasias de tejido blando en las que habitualmente se observa la expresión de la desmina.<sup>1,5-8</sup> Además, en ciertos liposarcomas desdiferenciados, carcinomas, tumores con características miofibroblásticas y neoplasias con una diferenciación dudosa puede observarse una expresión variable de desmina debido a la presencia de células musculares reactivas atrapadas.<sup>1,5,6,8</sup> Mediante la inmunohistoquímica (IHC) se puede evaluar la expresión de la desmina en las neoplasias de tejido blando y facilitar información adicional en cuanto a la estirpe del tumor o su origen.<sup>1,5-8</sup>

La detección de la desmina mediante inmunohistoquímica con el anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) Primary Antibody (CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) anticuerpo) puede servir de ayuda en la identificación de neoplasias de origen miogénico. Este anticuerpo se puede utilizar como parte del panel de estudios IHC. El patrón de tinción celular del anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) es citoplasmático.

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) se une a la desmina en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE). El anticuerpo puede visualizarse mediante OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001) o *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001). Consulte la hoja de datos correspondiente para obtener más información.

### MATERIAL SUMINISTRADO

El anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL de anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) contiene aproximadamente 25 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra la desmina que se encuentra presente en el tejido.

El anticuerpo se diluye en un tampón con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.

La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 5 µg/mL. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto. El anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) es un anticuerpo monoclonal de ratón producido como sobrenadante de cultivo celular.

Consulte en la hoja de datos correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Material y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Negative Control (Monoclonal) (n.º cat. 760-2014 / 05266670001)
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001)
4. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001)
5. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
6. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
7. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
8. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
9. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
10. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
11. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
12. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
13. Equipo de laboratorio de uso general
14. Instrumento BenchMark IHC/ISH

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, debe conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C. No lo congele.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpos tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

### PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.<sup>9</sup> Las secciones de tejido se deben cortar con un grosor aproximado de 4 µm y colocarse en portaobjetos cargados positivamente. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.

- Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
- Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.<sup>10,11</sup>
- Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
- Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios que puede encontrar en [navifyportal.roche.com](http://navifyportal.roche.com).
- Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
- El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
- Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P261	Evite inhalar la niebla o los vapores.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Este producto contiene CAS n.º 55965-84-9, masa reactiva de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1)

## PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte las tablas que aparecen a continuación para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos. Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Para obtener más información sobre el uso correcto de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociado con P/N 760-2513.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) con OptiView DAB IHC Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método	
	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento o del antígeno)	CC1, 32 minutos,	ULTRA CC1, 32 minutos, 100 °C
Inhibidor preprimario de peroxidasa	Seleccionado	Seleccionado
Anticuerpo (Primario)	12 minutos, 37 °C	12 minutos, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 minutos (predeterminado)	
OptiView HRP Multimer	8 minutos (predeterminado)	
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos	
Post-contratinción	Bliuing, 4 minutos	

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

Tabla 3. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) con ultraView Universal Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método	
	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento o del antígeno)	CC1, Suave	ULTRA CC1 36 minutos 95 °C (Suave)
Anticuerpo (Primario)	16 minutos, 37 °C	36 minutos, 36 °C
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos	
Post-contratinción	Bliuing, 4 minutos	

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, el acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del lector. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances».<sup>12</sup>

## CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Además de la tinción con el anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11), se debe teñir un segundo portaobjetos con el reactivo de control negativo correspondiente.

## CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

Se debe incluir un control tisular en cada sesión de tinción. La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado para el control de calidad. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como

negativa y ambos sirven como control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía, preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el correcto funcionamiento de los reactivos y los instrumentos, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de prueba. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados con las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Como ejemplo de tejido de control positivo para este anticuerpo se encuentra el músculo liso del colon. Los componentes de tinción positiva del tejido (miocitos) sirven para comprobar que el anticuerpo se ha aplicado y el instrumento ha funcionado correctamente.

### INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El patrón de tinción celular del anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) es citoplasmático.

Es posible que el anticuerpo presente tinción en el músculo liso y en las células miofibroblásticas, mioideas y reticulares en los tejidos normales y neoplásicos.

### LIMITACIONES ESPECÍFICAS

La detección mediante el sistema de detección OptiView es por lo general más sensible que la del sistema de detección *ultraView*. El usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo y los sistemas de detección.

Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

#### RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

#### Sensibilidad y especificidad

**Tabla 4.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) se determinó analizando tejidos normales FFPE.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Cerebro	0/3	Corazón	3/3
Cerebelo	0/3	Esófago <sup>a</sup>	3/3
Glándula suprarrenal <sup>a</sup>	0/4	Estómago <sup>a</sup>	3/3
Ovario <sup>a</sup>	3/3	Intestino delgado <sup>a</sup>	4/4
Páncreas <sup>a</sup>	0/3	Colon <sup>a</sup>	3/3
Ganglio linfático <sup>a</sup>	0/3	Apéndice <sup>a</sup>	3/3
Glándula paratiroidea <sup>a</sup>	0/3	Hígado <sup>a</sup>	0/3
Glándula pituitaria <sup>a</sup>	0/3	Glándula salival <sup>a</sup>	0/4
Testículos <sup>a,b</sup>	3/3	Riñón <sup>a,c</sup>	0/3
Tiroides	0/3	Próstata <sup>a</sup>	4/4
Mama <sup>c</sup>	0/4	Vejiga <sup>a</sup>	3/3
Bazo <sup>a</sup>	0/3	Endometrio	0/3
Amígdala <sup>a</sup>	0/6	Cuello del útero <sup>a</sup>	0/3
Timo <sup>a</sup>	0/3	Músculo esquelético	3/3
Médula ósea	0/3	Piel <sup>a</sup>	0/3

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Laringe <sup>a</sup>	0/2	Nervios <sup>a</sup>	0/3
Pulmón <sup>a,c</sup>	0/3	Mesotelio <sup>a,d</sup>	3/4

<sup>a</sup> Casos que han presentado tinción en el músculo liso

<sup>b</sup> Células mioideas peritubulares

<sup>c</sup> Entre los tejidos evaluados se encuentran los procesos normales y benignos

<sup>d</sup> Células mesoteliales

**Tabla 5.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) se determinó analizando tejidos neoplásicos FFPE.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma (cerebro)	1/1
Ependimoma (cerebro)	0/1
Meningioma (cerebro)	0/1
Oligodendroglioma (cerebro)	0/1
Adenocarcinoma (senos paranasales)	1/1
Carcinoma de células escamosas (senos paranasales)	0/1
Fibrolipoma (cabeza y cuello)	0/1
Ameloblastoma (cabeza y cuello)	0/2
Adenoma (glándula suprarrenal)	0/1
Feocromocitoma (glándula suprarrenal)	0/1
Tumor de células adultas de la granulosa (ovario)	0/1
Carcinoma seroso (ovario)	1/1
Teratoma (ovario)	1/1
Neoplasia neuroendocrina (páncreas)	0/1
Adenocarcinoma ductal (páncreas)	0/1
Carcinoma embrionario (testículos)	1/1
Seminoma (testículos)	0/1
Carcinoma folicular (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal in situ (DCIS) (mama)	0/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/1
Carcinoma lobulillar invasivo (mama)	0/1
Linfoma difuso de linfocitos B grandes (bazo)	0/1
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (pulmón)	0/1
Tumor fibroso solitario (pleura)	0/1
Mixoma (corazón)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Sarcoma (pericardio)	1/1
Carcinoma de células escamosas (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (estómago)	0/1
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (estómago)	3/3
Mesotelioma (estómago)	1/1
Adenocarcinoma (intestino delgado)	0/1
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (intestino delgado)	0/4
Tumor neuroendocrino bien diferenciado (apéndice)	0/1
Adenocarcinoma (colon)	0/1
Carcinoma adenoescamoso (colon)	0/1
Colangiocarcinoma (hígado)	0/1
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/1
Adenoma pleomórfico (glándula salival)	0/1
Tumor de Warthin (glándula salival)	0/1
Adenoma papilar (riñón)	0/1
Carcinoma de células renales (riñón)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	0/2
Carcinoma de células escamosas (vejiga)	0/1
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/1
Carcinoma de células claras (útero)	0/1
Adenocarcinoma (útero)	0/1
Adenocarcinoma (cuello del útero)	0/1
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	0/1
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Melanoma (piel)	0/1
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Schwannoma (médula espinal)	0/1
Sarcoma epiteloide (tejido blando)	0/3
Angiosarcoma (tejido blando)	0/1
Angioleiomioma (tejido blando)	1/1
Tumor fibroso solitario (tejido blando)	0/1
Lipoma (tejido blando)	0/1
Sarcoma de células claras (tejido blando)	0/1
Linfoma anaplásico de células grandes (ganglio linfático)	0/1
Linfoma folicular (ganglio linfático)	0/1
Linfoma de Hodgkin (ganglio linfático)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Rabdomiosarcoma polimorfo	1/2
Rabdomiosarcoma alveolar	3/5
Rabdomiosarcoma embrionario	3/3
Rabdomiosarcoma	5/8
Liposarcoma	7/19
Leiomioma	5/5
Leiomiocarcinoma	19/25
Fibrosarcoma	5/28
Fibroma	2/3
Hemangioma	0/2
Condrosarcoma	1/7
Sarcoma sinovial	0/5
Sarcoma polimorfo sin diferenciar de gran malignidad	2/8
Dermatofibrosarcoma protuberante	0/5
Tumor de células gigantes (hueso)	2/11
Mieloma múltiple (médula ósea)	0/1
Osteosarcoma	1/5
Sarcoma (cavidad peritoneal)	1/1
Carcinosarcoma (tumor mixto maligno de Muller, MMT) (cavidad peritoneal)	1/1
Carcinoma metastásico	0/4
Adenocarcinoma metastásico	0/1

### Precisión

Se llevaron a cabo estudios de precisión con el anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) para demostrar:

- La precisión entre lotes del anticuerpo.
- La precisión dentro de la sesión y entre días en un instrumento BenchMark ULTRA.
- La precisión entre instrumentos en los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.
- La precisión entre plataformas entre los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

Se demostró la precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos. Entre los estudios que se llevaron a cabo figuraban la repetibilidad entre sesiones y la precisión intermedia entre días y entre análisis. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

### RENDIMIENTO CLÍNICO

Los datos de rendimiento clínico pertinentes para el uso previsto del anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) se evaluaron mediante revisiones sistemáticas de la documentación pertinente. Los datos obtenidos respaldan la utilización del dispositivo de acuerdo con su uso previsto.

### REFERENCIAS

1. Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry Theranostic and Genomic Applications, 5th Edition. Vol 5. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2019.

2. Paulin D, Li Z. Desmin: A Major Intermediate Filament Protein Essential for the Structural Integrity and Function of Muscle. *Exp Cell Res.* 2004;301(1):1-7.
3. Hol EM, Capetanaki Y. Type III Intermediate Filaments Desmin, Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), Vimentin, and Peripherin. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(12):a021642.
4. Hnia K, Ramspacher C, Vermot J, et al. Desmin in Muscle and Associated Diseases: Beyond the Structural Function. *Cell Tissue Res.* 2015;360(3):591-608.
5. Antonescu CR, WHO, Classification of Tumours Editorial B. *Soft Tissue and Bone Tumours.* Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020.
6. Wei S, Henderson-Jackson E, Qian X, et al. Soft Tissue Tumor Immunohistochemistry Update: Illustrative Examples of Diagnostic Pearls to Avoid Pitfalls. *Arch Pathol Lab Med.* 2017;141(8):1072-1091.
7. Parham DM. Immunohistochemical Markers of Soft Tissue Tumors: Pathologic Diagnosis, Genetic Contributions, and Therapeutic Options. *Anal Chem Insights.* 2015;10:ACI. S32730.
8. Miettinen M. Immunohistochemistry of Soft Tissue Tumours—Review with Emphasis on 10 Markers. *Histopathology.* 2014;64(1):101-118.
9. Carson FL, Cappellano C. *Histotechnology; A Self-Instructional Text*, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
10. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). *Fed. Register.*
11. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
12. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

**NOTA:** En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

### Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte [elabdoc.roche.com/symbols](http://elabdoc.roche.com/symbols) para obtener más información al respecto).



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

### HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
F	Se han actualizado las secciones Advertencias y precauciones, Referencias y Símbolos.

### PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView* y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

### INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

[www.roche.com](http://www.roche.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany  
+800 5505 6606



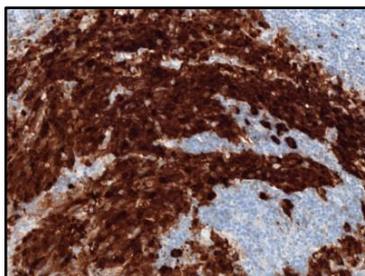
Farm. ROCHETA S.R.L. MOZZA  
PRODOTTO DA ROCHETA S.A. G e L.  
Divisione Diagnostica  
DT & APODERATA LEGAL

## CONFIRM anti-S100 (4C4.9) Primary Antibody

**REF** 790-2914

05278104001

**IVD** 50



**Figura 1. Anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) con presencia de patrón de tinción citoplasmática y nuclear en tejido de melanoma.**

### USO PREVISTO

El anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) Primary Antibody es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la proteína S100 mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica

pertinente y los controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La familia de proteínas S100 consta de, al menos, 25 proteínas de bajo peso molecular (9-13 kDa) con unión a calcio del tipo manos-EF.<sup>1</sup> La mayor parte de estas proteínas son homodímeros y heterodímeros en los que los monómeros están unidos de forma no covalente.<sup>1</sup> La expresión de los miembros de la familia S100 se observa en una amplia variedad de tipos de células y afectan a la regulación de distintos procesos intracelulares, como la contracción, la motilidad, el crecimiento celular, la regulación del ciclo celular y de los factores de transcripción y la fosforilación de proteínas.<sup>1,2</sup> Existen ciertas proteínas S100 que se segregan o se liberan cuando aparece daño celular y que desempeñan funciones extracelulares.<sup>1,2</sup>

La expresión de S100 se observa en diversos tipos de células, como los melanocitos, los astrocitos, las células de Langerhans, las células de tejido cartilaginosa y adiposo, neuroglíocitos y neuronas, células de Schwann y células mioepiteliales.<sup>1,3</sup> Las neoplasias que se derivan de este tipo de células también presentan expresión de S100, como los melanomas, proliferaciones histiocíticas elegidas, schwannomas, diferentes carcinomas (como los de las glándulas salivales o sudoríparas), gliomas o neurilemas de nervios periféricos (PNST).<sup>1,3</sup>

La detección de la proteína S100 mediante inmunohistoquímica (IHC) con CONFIRM anti-S100 (4C4.9) Primary Antibody (anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9)) puede servir como marcador melanocítico y contribuir al diagnóstico diferencial de los tumores melanocíticos frente a aquellos que no lo son. Se puede utilizar como parte de un panel de estudios de IHC. El patrón de tinción es citoplasmática y nuclear.

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) es un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra la proteína S100 de cerebro bovino purificada. El anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) se une a la proteína S100 en las secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina y presenta un patrón de tinción citoplasmática y nuclear. Este anticuerpo se puede visualizar con OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001), con *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001) o con *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (n.º cat. 760-501 / 05269814001). Consulte las hojas de datos correspondientes para obtener más información.

### MATERIAL SUMINISTRADO

El anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL del anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) contiene aproximadamente 50 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón.

El anticuerpo se diluye en un tampón fosfato salino con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0.05 %, un conservante.

La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 10 µg/mL. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

El anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) es un anticuerpo monoclonal de ratón producido como sobrenadante de cultivo celular purificado.

Consulte en la hoja de datos correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Material y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Negative Control (Monoclonal) (n.º cat. 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001)
5. VENTANA Antibody Diluent with Casein (n.º cat. 760-219 / 06440002001)
6. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001)
7. *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (n.º cat. 760-501 / 05269814001)
8. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
10. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
11. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
14. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
15. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
16. Medio de montaje permanente
17. Cubreobjetos de cristal
18. Montador automático
19. Equipo de laboratorio de uso general
20. Instrumento BenchMark IHC/ISH

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese entre 2 y 8 °C. No lo congele.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpos tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

### PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos fijados con formol y embebidos en parafina (FFPE) que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.<sup>4</sup> Las secciones de tejido se deben cortar con un grosor aproximado de 4 µm y colocarse en portaobjetos cargados positivamente. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de las secciones de tejido puede disminuir con el tiempo. Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Recommended Slide Storage and Handling» para obtener más información al respecto.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
- Solo para uso profesional.
- PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
- No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
- La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
- Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
- Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas de las autoridades sanitarias responsables.<sup>5,6</sup>
- Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
- Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com).
- Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
- El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
- Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este anticuerpo contiene componentes clasificados como sigue de acuerdo con la Normativa (CE) n.º 1272/2008:

**Tabla 1.** Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
	P272	Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Este anticuerpo contiene CAS n.º 55965-84-9, una masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

## PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte las tablas que aparecen a continuación para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos. Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociado con P/N 790-2914.

**Tabla 2.** Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) con *ultraView* Universal DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, Suave	CC1, Suave	ULTRA CC1, Suave
Anticuerpo (Primario)	4 minutos, 37 °C	4 minutos, 37 °C	4 minutos, 36 °C
<b>ultraBlock<sup>b</sup></b>	8 minutos		
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

<sup>b</sup> Utilice VENTANA Antibody Diluent with Casein en el paso *ultraBlock*.

**Tabla 3.** Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) con *ultraView* Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, Suave	CC1, Suave	ULTRA CC1, Suave
Anticuerpo (Primario)	4 minutos, 37 °C	8 minutos, 37 °C	8 minutos, 36 °C
<b>ultraBlock<sup>b</sup></b>	8 minutos		
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

<sup>b</sup> Utilice VENTANA Antibody Diluent with Casein en el paso *ultraBlock*.

**Tabla 4.** Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) con *OptiView* DAB IHC Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, 8 minutos	CC1, 16 minutos	ULTRA CC1, 16 minutos, 100 °C

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Inhibidor preprimario de peroxidasa	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Anticuerpo (Primario)	4 minutos, 37 °C	4 minutos, 37 °C	4 minutos, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 minutos (predeterminado)		
OptiView HRP Multimer	8 minutos (predeterminado)		
Opción 2 <sup>b</sup>	8 minutos		
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

<sup>b</sup> Opción 2 para el uso de VENTANA Antibody Diluent with Casein.

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, el acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del lector. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances».<sup>7</sup>

#### CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Además de la tinción con el anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9), se debe teñir un segundo portaobjetos con el reactivo de control negativo correspondiente.

#### CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado para el control de calidad. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos y los instrumentos, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de prueba. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

El tejido de control positivo recomendado es de apéndice. Las células de Schwann en fibras de nervios periféricos y las células satélite ganglionares de las capas muscular y submucosa deberían presentar una tinción positiva fuerte, igual que los adipocitos y las células dendríticas y macrófagos de lámina propia. Las células epiteliales deberían presentar tinción negativa.

#### INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El patrón de tinción celular del anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) es nuclear y citoplasmática.

#### LIMITACIONES ESPECÍFICAS

La detección mediante el sistema de detección OptiView es, por lo general, más sensible que la de otros sistemas de detección. El usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo y los sistemas de detección.

Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

#### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

##### RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Las pruebas de tinción para especificidad, sensibilidad y precisión se realizaron y los resultados se indican a continuación.

##### Sensibilidad y especificidad

**Tabla 5.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) se determinó analizando tejidos normales FFPE.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Cerebro	3/3	Timo	0/3
Cerebelo	3/3	Médula ósea	0/3
Glándula suprarrenal <sup>a</sup>	2/3	Pulmón	0/3
Ovario	0/3	Mesotelio del pulmón	0/3
Páncreas <sup>b</sup>	2/3	Corazón	0/3
Ganglio linfático	0/3	Esófago	0/3
Glándula paratiroidea	0/3	Estómago	0/3
Hipófisis (pituitaria)	0/3	Intestino delgado	0/3
Testículos <sup>c</sup>	2/3	Colon	0/3
Tiroides	0/4	Hígado	0/3
Mama <sup>d</sup>	13/13	Glándula salival	0/3
Bazo	0/3	Riñón	0/3
Amígdala	0/3	Próstata	0/3
Endometrio	0/3	Cuello del útero	0/3
Músculo esquelético	0/3	Piel	46/47
Nervio periférico	10/10	Vejiga	0/3

<sup>a</sup> Células sustentaculares; <sup>b</sup> Células de islotes; <sup>c</sup> Células de Sertoli; <sup>d</sup> Células mioepiteliales

**Tabla 6.** La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos FFPE.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma (cerebro)	2/2
Meningioma (cerebro)	2/4
Ependimoma (cerebro)	2/2
Oligodendroglioma (cerebro)	1/1
Carcinoma seroso (ovario)	1/1
Carcinoma (ovario)	0/1
Neoplasia neuroendocrina (páncreas)	0/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1
Seminoma (testículos)	0/1
Carcinoma embrionario (testículos)	0/1

Farm. ROBERTA NELLE MAZZA  
PRODUCES OF ROCHE S.A. e.l.  
Division Diagnostic  
DT & APODOADA LEGAL

Patología	N.º de casos positivos/total
Carcinoma medular (tiroides)	1/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/8
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (pulmón)	0/2
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	0/1
Adenocarcinoma mucinoso (estómago)	0/1
Adenocarcinoma (intestino delgado)	0/1
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (intestino delgado)	0/1
Adenocarcinoma (colon)	0/1
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (colon)	0/1
Adenocarcinoma (recto)	0/1
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (recto)	0/1
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/1
Hepatoblastoma (hígado)	0/1
Carcinoma de células claras (riñón)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	0/2
Leiomioma (útero)	0/1
Carcinoma (útero)	0/1
Carcinoma de células claras (útero)	0/1
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	0/2
Rabdomiosarcoma embrionario (músculo estriado)	0/1
Melanoma (recto)	1/1
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Neurofibroma (lumbar)	5/7
Neuroblastoma (retroperitoneo)	0/1
Mesotelioma (peritoneo)	0/1
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/1
Leiomiomasarcoma (vejiga)	0/2
Rabdomiosarcoma de células fusiformes (peritoneo)	0/1
Linfoma de linfocitos B, sin especificar (ganglio linfático)	0/3
Linfoma de Hodgkin (ganglio linfático)	0/1
Linfoma anaplásico de células grandes (ganglio linfático)	0/1
Melanoma	41/45
Carcinoma lobulillar invasivo (mama)	0/2

Patología	N.º de casos positivos/total
Enfermedad de Paget (mama)	0/1
Liposarcoma	8/8
Oligoastrocitoma	1/1
Astrocitoma	2/2
Gliosarcoma	1/1
Linfoma de linfocitos T periférico, sin especificar	1/1
Neurilemoma maligno de nervios periféricos (MPNST)	6/20
Tumor embrionario del SNC	0/2
Schwannoma	11/12
Ganglioneuroma	2/2

### Precisión

Se llevaron a cabo estudios de precisión con el anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) para demostrar:

- La precisión entre lotes del anticuerpo.
- La precisión dentro de la sesión y entre días en un instrumento BenchMark ULTRA.
- La precisión entre instrumentos en los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.
- La precisión entre plataformas entre los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

Se demostró la precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos. Entre los estudios que se llevaron a cabo figuraban la repetibilidad entre sesiones y la precisión intermedia entre días y entre análisis. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

### RENDIMIENTO CLÍNICO

Los datos de rendimiento clínico pertinentes para el uso previsto del anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) se evaluaron mediante revisión sistemática de la documentación oportuna. Los datos obtenidos respaldan la utilización del dispositivo de acuerdo con su uso previsto.

### REFERENCIAS

1. Halawi A, Abbas O, Mahalingam M. S100 proteins and the skin: a review. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014;28(4):405-414.
2. Donato R, Cannon BR, Sorci G, et al. Functions of S100 proteins. Curr Mol Med. 2013;13(1):24-57.
3. Ordonez NG. Value of melanocytic-associated immunohistochemical markers in the diagnosis of malignant melanoma: a review and update. Human Pathology. 2014;45(2):191-205.
4. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
5. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
6. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
7. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

**NOTA:** En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

### Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte en [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com) la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el dispositivo médico a la Unión Europea

### HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
F	Se han actualizado las secciones Principio del procedimiento, Materiales suministrados, Preparación de muestras, Advertencias y precauciones, Procedimiento de tinción, Control de reactivo negativo, Rendimiento de análisis, Símbolos e Información de contacto. Se ha añadido el instrumento BenchMark ULTRA PLUS.

### PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, OPTIVIEW *ultraView* y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

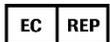
© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

### INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

[www.roche.com](http://www.roche.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany  
+800 5505 6606



Farm. ROBERTA M. LE MAZZA  
PRODUCES ROCHE S.A. G. e. I.  
Divisione Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

## FITC Anti-IgG Primary Antibody

Referencia 760-2680

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-IgG (immunoglobulin G) Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgG humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina G en tejidos diana de la IgG (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgG está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años<sup>1</sup>. En la publicación de Faulk y Humans<sup>2</sup> se puede encontrar una visión de conjunto informativa del uso de anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes eficaces y específicos para los antígenos celulares. El uso de la técnica de inmunofluorescencia ha provocado un mejor entendimiento general de las patologías renales,<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-IgG contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra IgG humana purificada. El anticuerpo se obtiene mediante purificación de la fracción gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína. A continuación se elimina el exceso de fluorocromo mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje<sup>5</sup>. Se ha descrito la detección mediante inmunofluorescencia de IgG en tejido renal<sup>6,7,8</sup> y dérmico<sup>9,4</sup> humano. El Anti-IgG se une de manera específica a las porciones de cadena pesada de la inmunoglobulina G humana.

#### Principios y procedimientos

FITC anti-IgG puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de las secciones de tejido congelado. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en la localización del antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-IgG se ha prediluido óptimamente para su uso con los equipos de tinción automatizados. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automatizado. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-IgG contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-IgG; contiene aproximadamente 817 µg (163,4 µg/mL) de anticuerpos policlonales de cabra dirigidos contra IgG humana. El anticuerpo se diluye en tampón derivado del tampón tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 600 µg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X)\* de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso, adecuado para fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20 – 80X) equipado con un filtro de FITC

\* Según sea necesario para las aplicaciones específicas.

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2 – 8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). El fijador de tejido recomendado es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

- Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
- No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
- Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
- Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
- Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
- Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
- Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC Anti-IgG

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección de protocolos	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	FITC Anti-IgG, 8 minutos	FITC Anti-IgG, 8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

- Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
- Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
- Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
- Comenzar el proceso de tinción.
- Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.
- Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La

eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C ó -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

## Procedimientos de control de calidad

### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-IgG es la amígdala o un ganglio linfático congelados. Los componentes tisulares que muestran tinción positiva (tinción de los linfocitos de los centros germinales) se utilizan para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñan tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesado del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>10</sup> y la NCCLS Approved Guideline<sup>11</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aun en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos<sup>12</sup>. Contactar con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry – Principles and Advances"<sup>13</sup>.
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-IgG se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y enfermos. Se analizaron dieciséis tipos de tejidos normales con FITC Anti-IgG. Los 16 tipos de tejidos normales fueron: riñón, amígdala, hígado, bazo, pulmón, ganglio linfático, corazón, piel, estómago, cerebro, útero, próstata, intestino delgado, nervios, mesotelio y tiroides. Se observó tinción negativa en hígado, bazo, pulmón, corazón, piel, estómago, cerebro, útero, próstata, intestino delgado, nervios, mesotelio y tiroides. Se observó cierta autofluorescencia inespecífica en riñón, hígado, pulmón, y estómago. Se observó cierta tinción positiva débil de las células B inmaduras en amígdala y ganglio linfático. Se tiñeron diez biopsias de piel enferma y 3 biopsias de riñón enfermo con FITC Anti-IgG. Las 13 muestras clínicas produjeron los resultados clínicamente positivos esperados.
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección de IgG con FITC anti-IgG y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-IgG se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos en la misma sesión del instrumento. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en un solo proceso.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-IgG se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones del instrumento diferentes. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Leduc EH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells. VI. The fate of injected foreign proteins in the mouse. *J Exp Med.* Feb;93(2):173-88, 1951.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. *Prog Allergy*;16:9-39, 1972.
3. McCluskey RT, Collins AB. The value of immunofluorescence in the study of renal disease. *Ann N Y Acad Sci.*;420:302-8, 1983.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. *Am J Clin Pathol.* Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. *J Immunol.* Aug;95(2):225-9, 1965.
6. Tomino Y, Sakai H, Miura M, Endoh M, Nomoto Y. Detection of polymeric IgA in glomeruli from patients with IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol.* Aug;49(2):419-25, 1982.
7. Inoue W, Tomino Y, Miura M, Yagame M, Nomoto Y, Sakai H. Detection of immunoglobulins and other serum proteins in the dermal and glomerular capillary walls from patients with diabetes mellitus. *Acta Pathol Jpn.* Aug;36(8):1181-9, 1986.
8. Tokuda M, Shimizu J, Sugiyama N, Kiryu T, Matsuoka K, Sasaki O, Fukuda K, Hatase O, Monden H. Direct evidence of the production of IgA by tonsillar lymphocytes and the binding of IgA to the glomerular mesangium of IgA nephropathy patients. *Acta Otolaryngol Suppl.*523:182-4, 1996.
9. Chan LS, Traczyk T, Taylor TB, Eramo LR, Woodley DT, Zone JJ. Linear IgA bullous dermatosis. Characterization of a subset of patients with concurrent IgA and IgG anti-basement membrane autoantibodies. *Arch Dermatol.* 1995 Dec;131(12):1432-7.
10. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
11. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
12. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem* 66(4): 194-199, 1991.
13. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

CONFIRM™, EZ Prep™, MIEW™ y Liquid Coverslip™ son marcas comerciales de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, Gen II®, NexES® y Ventana® son marcas comerciales registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Protegido por las siguientes patentes: Patentes de los EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA ANILEZZA  
PROD. LOS ROCHE S.A. de I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755  
USA

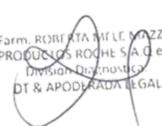
+1 520 887 2155  
+1 800 227 2155 (USA)



[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)

**EC REP**

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany



Farm. ROBERTA NELLE MOZZA  
PRODUCIOS ROCHÉ S.p.A. G.e.L.  
Divisione Diagnostica  
DT & APODIARADA LEGAL

## FITC Anti-IgA Primary Antibody

Referencia 760-2681

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-IgA (inmunoglobulina A) Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgA humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina A en tejidos diana de la IgA (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgA está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años.<sup>1</sup> En la publicación de Faulk y Humans<sup>2</sup> se puede encontrar una visión de conjunto informativa del uso de anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes eficaces y específicos para los antígenos celulares. El uso de la técnica de inmunofluorescencia ha provocado un mejor entendimiento general de las patologías renales<sup>3</sup>, y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-IgA contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra IgA humana purificada. El anticuerpo se obtiene mediante purificación por cromatografía de inmunoafinidad de la fracción de gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína para producir un cociente de fluoresceína a proteína de aproximadamente 3,0 mol/mol. A continuación se elimina el exceso de colorante mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje<sup>5</sup>. Se ha descrito la detección mediante inmunofluorescencia de la IgA en tejido renal<sup>6,7,8</sup> y dérmico<sup>9,4</sup> humano. Anti-IgA se une de manera específica a las porciones de cadena pesada de la inmunoglobulina A humana. No reacciona con las cadenas pesadas de la IgM o IgG humanas, ni con las cadenas ligeras comunes a la mayoría de las inmunoglobulinas.

#### Principios y procedimientos

FITC anti-IgA puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de las secciones de tejido congelado. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en la localización del antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-IgA se ha prediluido óptimamente para su uso con los equipos de tinción automatizados. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación se aclaran los cortes en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener así la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la Liquid Coverslip Solution en el Slide Stainer. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-IgA contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-IgA (policlonal); contiene aproximadamente 188 µg (37,6 µg/mL) de un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra la IgA humana. El anticuerpo se diluye en tampón derivado de tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 50 µg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios pero no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X)\* de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso, adecuado para fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20-80X) equipado con un filtro de FITC

\* Según sea necesario para las aplicaciones específicas.

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2–8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). El fijador de tejido recomendado es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

- Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
- No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
- Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
- Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
- Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
- Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
- Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC Anti-IgA

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección de protocolos	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	FITC Anti-IgA 8 minutos	FITC Anti-IgA 8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Ventana Automated Slide Stainers son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

- Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
- Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
- Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
- Comenzar el proceso de tinción.
- Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.

- Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

## Procedimientos de control de calidad

### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-IgA es la amígdala o los ganglios linfáticos congelados. Los componentes tisulares que muestran tinción positiva (tinción de los linfocitos de los centros germinales) se utilizan para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñan tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tienen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>10</sup> y la NCCLS Approved Guideline<sup>11</sup>. Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aun en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos<sup>12</sup>. Contactar con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry – Principles and Advances"<sup>13</sup>
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-IgA se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y enfermos. Se tiñeron nueve biopsias de piel y 2 riñones enfermos con FITC anti-IgA y produjeron los resultados clínicos esperados. Ocho de los 11 tejidos produjeron unos resultados de tinción positivos. Dos casos de lupus dieron tinción positiva y 2 casos de penfigoides también mostraron resultados positivos. Se tiñó una variedad de tejidos normales con FITC anti-IgA y los siguientes tejidos fueron negativos: pulmón, cerebro, tiroides y diafragma. Para nervios, 3 de 3 casos mostraron una tinción inespecífica de fondo; para útero, 3 de 3 casos fueron negativos, pero mostraron cierta tinción inespecífica de linfocitos; para intestino delgado, 3 de 3 casos fueron negativos, pero mostraron una tinción inespecífica en las criptas y en las regiones necróticas.
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección de IgA con FITC anti-IgA y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-IgA se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos en el mismo proceso instrumental. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en una sola sesión.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-IgA se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones diferentes del instrumento. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

Farm. RORRITA MILE MAZZA  
 PRODUCES LOS ROCHES S.A. de I.  
 División Diagnóstica  
 DT & APODERADA LEGAL

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Leduc EH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells. VI. The fate of injected foreign proteins in the mouse. *J Exp Med.* Feb;93(2):173-88, 1951.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. *Prog Allergy*.;16:9-39, 1972.
3. McCluskey RT, Collins AB. The value of immunofluorescence in the study of renal disease. *Ann N Y Acad Sci.*;420:302-8, 1983.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. *Am J Clin Pathol.* Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. *J Immunol.* Aug;95(2):225-9, 1965.
6. Tomino Y, Sakai H, Miura M, Endoh M, Nomoto Y. Detection of polymeric IgA in glomeruli from patients with IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol.* Aug;49(2):419-25, 1982.
7. Inoue W, Tomino Y, Miura M, Yagame M, Nomoto Y, Sakai H. Detection of immunoglobulins and other serum proteins in the dermal and glomerular capillary walls from patients with diabetes mellitus. *Acta Pathol Jpn.* Aug;36(8):1181-9, 1986.
8. Tokuda M, Shimizu J, Sugiyama N, Kiryu T, Matsuoka K, Sasaki O, Fukuda K, Hatase O, Monden H. Direct evidence of the production of IgA by tonsillar lymphocytes and the binding of IgA to the glomerular mesangium of IgA nephropathy patients. *Acta Otolaryngol Suppl.*523:182-4, 1996.
9. Chan LS, Traczyk T, Taylor TB, Eramo LR, Woodley DT, Zone JJ. Linear IgA bullous dermatosis. Characterization of a subset of patients with concurrent IgA and IgG anti-basement membrane autoantibodies. *Arch Dermatol.* 1995 Dec;131(12):1432-7.
10. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
11. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
12. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem* 66(4): 194-199, 1991.
13. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

CONFIRM™, EZ Prep™, MIEW™ y Liquid Coverslip™ son marcas comerciales de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, Gen II®, NexES® y Ventana® son marcas comerciales registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Protegido por las siguientes patentes: Patentes de los EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA NELLE MAZZA  
PRODUCOS ROCHE S.A. Q.e.I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

## INFORMACIÓN DE CONTACTO



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



[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

Farm. ROBERTA MILLE MAZZA  
PRODUCES ROCHE S.A. e. l.  
Division Diagnostics  
DT & APODERADA LEGAL

## FITC Anti-IgM Primary Antibody

Referencia 760-2682

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-IgM (immunoglobulin M) Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgM humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina M en tejidos diana de la IgM (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgM está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años<sup>1</sup>. En la publicación de Faulk y Humans<sup>2</sup> se puede encontrar una visión de conjunto informativa del uso de anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes eficaces y específicos para los antígenos celulares. El uso de la técnica de inmunofluorescencia ha provocado un mejor entendimiento general de las patologías renales,<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-IgM contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra IgM humana purificada. El anticuerpo se obtiene mediante purificación de la fracción gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína. A continuación se elimina el exceso de fluorocromo mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje<sup>5</sup>. La detección por inmunofluorescencia de la IgM se ha utilizado para localizar depósitos de IgM en biopsias de pacientes con nefropatía membranosa<sup>6</sup> y diabetes mellitus<sup>7</sup>. La IgM también se ha detectado mediante inmunquímica fluorescente en las paredes arteriales en biopsias de pacientes hipertensos<sup>8</sup>. La detección mediante inmunofluorescencia de la IgM en tejido dérmico humano y su implicación en las patologías dérmicas se ha descrito en otras publicaciones.<sup>4</sup>

FITC anti-IgM se une de manera específica a las porciones de cadena pesada de la inmunoglobulina M humana y sus subclases.

#### Principios y procedimientos

FITC anti-IgM puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de las secciones de tejido congelado. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en la localización del antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-IgM se ha prediluido óptimamente para su uso con los equipos de tinción automatizados. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automatizado. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-IgM contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-IgM; contiene aproximadamente 817 µg (163,4 µg/mL) de anticuerpos policlonales de cabra dirigidos contra IgM humana. El anticuerpo se diluye en tampón derivado de tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 600 µg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X) de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso, adecuado para fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20 - 80X) equipado con un filtro de FITC

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2 - 8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). El fijador de tejido recomendado es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

### AVISOS Y PRECAUCIONES

1. Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
2. No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
3. Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
4. Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
5. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
6. Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
7. La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
9. Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

### INSTRUCCIONES DE USO

#### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC Anti-IgM

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección de protocolos	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	FITC Anti-IgM 8 minutos	FITC Anti-IgM 8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

#### Para todos los instrumentos

1. Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
2. Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
3. Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
4. Comenzar el proceso de tinción.

5. Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.
6. Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden descongelarse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

### Procedimientos de control de calidad

#### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-IgM es la amígdala o los ganglios linfáticos congelados. Los componentes tisulares que muestran tinción positiva (tinción de los linfocitos de los centros germinales) se utilizan para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñan tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesado del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

#### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

#### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

#### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>9</sup> y NCCLS Approved Guideline<sup>10</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

#### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un

anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

#### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

#### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

#### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

### LIMITACIONES

#### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aún en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica

de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos<sup>11</sup>. Contactar con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

#### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry – Principles and Advances"<sup>12</sup>.
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

### RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-IgM se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y enfermos. Se tiñeron nueve biopsias de piel y 2 riñones enfermos con FITC anti-IgM y produjeron los resultados clínicos esperados. Diez de los 11 tejidos produjeron unos resultados de tinción negativos. Se tiñó una variedad de tejidos normales con FITC anti-IgM y para los siguientes tejidos, 3 de 3 casos fueron negativos: pulmón, cerebro, tiroides y útero. En los siguientes tejidos, 3 de 3 casos produjeron resultados negativos, pero con cierta tinción inespecífica de fondo: diafragma, nervios e intestino delgado.
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección de IgM con FITC anti-IgM y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-IgM se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos en la misma sesión instrumental. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados, teniendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en una sola sesión.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-IgM se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones diferentes del instrumento. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, teniendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

### RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

Farm. ROBERTA MILETTA  
 PRODUCIOS ROCHE S.A. G e I.  
 División Diagnóstica  
 DT & APODERADA LEGAL

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Leduc EH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells. VI. The fate of injected foreign proteins in the mouse. *J Exp Med.* Feb;93(2):173-88, 1951.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. *Prog Allergy*;16:9-39, 1972.
3. McCluskey RT, Collins AB. The value of immunofluorescence in the study of renal disease. *Ann N Y Acad Sci.*;420:302-8, 1983.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. *Am J Clin Pathol.* Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. *J Immunol.* Aug;95(2):225-9, 1965.
6. Miura M, Tomino Y, Suga T, Endoh M, Nomoto Y, Sakai H. Evaluation of the staining findings of immunofluorescence in unfixed or fixed renal biopsy specimens from patients with IgA nephropathy and membranous nephropathy *Acta Pathol Jpn.* Mar;35(2):315-21, 1985.
7. Inoue W, Tomino Y, Miura M, Yagame M, Nomoto Y, Sakai H. Detection of immunoglobulins and other serum proteins in the dermal and glomerular capillary walls from patients with diabetes mellitus. *Acta Pathol Jpn.* Aug;36(8):1181-9, 1986.
8. Takagi M, Ikeda T, Ishii M, Kimura K, Atarashi K, Uehara Y, Matsuoka H, Murao S. An immunohistochemical study of renal vascular lesions in hypertensive patients. *Jpn Heart J.* Mar;26(2):235-46, 1985.
9. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
10. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
11. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem* 66(4): 194-199, 1991.
12. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

CONFIRM™, EZ Prep™, MIEW™ y Liquid Coverslip™ son marcas comerciales de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, Gen II®, NexES® y Ventana® son marcas comerciales registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Protegido por las siguientes patentes: Patentes de los EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA RILE MOZZA  
PRODUCES ROCHÉ S.A. de I.  
DIVISION DIAGNOSTIC  
DT & APOD. RADN LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

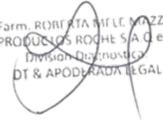
Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755  
USA  
+1 520 887 2155  
+1 800 227 2155 (USA)



[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)

**EC REP**

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany



Farm. ROBERTA MILLEMOZZA  
PRODUCOS ROCHÉ S.A. G.e.L.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

## FITC Anti-Kappa Primary Antibody

Referencia 760-2683

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-Kappa Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra las cadenas ligeras kappa de las inmunoglobulinas humanas. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de las cadenas kappa en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Kappa está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y con la evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años.<sup>1</sup> En la publicación de Faulk y Hijmans<sup>2</sup> se puede encontrar una visión de conjunto informativa del uso de anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes eficaces y específicos para los antígenos celulares. El uso de la técnica de inmunofluorescencia ha provocado un mejor entendimiento general de las patologías renales,<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-Kappa contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra cadenas ligeras kappa humanas purificadas. El anticuerpo se obtiene mediante purificación de la fracción gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína. A continuación se elimina el exceso de colorante mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje.<sup>5</sup> Ya se ha utilizado antes la visualización fluorescente del depósito de cadenas kappa en las membranas basales y en estructuras del mismo tipo de los glomérulos, los túbulos y de los vasos sanguíneos para diagnosticar una nefropatía de cadena ligera no sospechada.<sup>6</sup> FITC anti-Kappa se liga de forma específica a inmunoglobulinas que contienen cadenas ligeras kappa.

#### Principios y procedimientos

FITC anti-Kappa puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de los cortes de tejido congelado. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el lugar donde se encuentra el antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-Kappa se ha diluido óptimamente para su uso con los Automated Slide Stainers de Ventana. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automática. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-Kappa contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-Kappa; contiene aproximadamente 1,4 µg (0,28 µg/mL) de anticuerpos policlonales de cabra dirigidos contra las cadenas ligeras kappa humanas. El anticuerpo se diluye en tampón derivado de tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 3 mg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X)\* de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso, adecuado para fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20-80X) equipado con un filtro de FITC

\* Según sea necesario para las aplicaciones específicas.

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2–8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). La fijación de tejido recomendada es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

- Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
- No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
- Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
- Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
- Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
- Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
- Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC anti-Kappa

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección de protocolos	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	FITC anti-Kappa, 8 minutos	FITC anti-Kappa, 8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

- Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
- Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
- Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
- Comenzar el proceso de tinción.
- Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.

- Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK Wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

## Procedimientos de control de calidad

### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-Kappa es la amígdala o los ganglios linfáticos congelados. Los componentes tisulares que muestran tinción positiva (tinción de linfocitos y células plasmáticas) se utilizan para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñan tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesado del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,<sup>7</sup> y la NCCLS Approved Guideline<sup>8</sup>. Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aún en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos.<sup>9</sup> Póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>10</sup>
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-Kappa se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y enfermos. Se tiñeron una variedad de tejidos normales con FITC anti-Kappa, entre ellos, piel, bazo, pulmón, nervios, amígdala, hígado, cerebro, mesotelio, tiroides, útero, próstata e intestino delgado. Las tinciones de los siguientes tejidos fueron negativas: hígado (3 de 3 casos), cerebro (3 de 3 casos) y próstata (3 de 3 casos). Tres de 3 casos de piel, pulmón, riñón, nervios, tiroides, mesotelio e intestino delgado mostraron una tinción inespecífica en el tejido conjuntivo. Se observó una tinción positiva de los linfocitos en 3 de 3 casos de piel, bazo, riñón, amígdala e intestino delgado. Se tiñeron diez biopsias de piel enferma y 3 biopsias de riñón enfermo con FITC anti-Kappa. Las 13 muestras clínicas produjeron los resultados clínicos esperados. Nueve de los 13 casos teñidos con FITC anti-Kappa produjeron resultados de tinción positivos.
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección de kappa con FITC anti-Kappa y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-Kappa se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos en la misma sesión instrumental. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en un solo proceso.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-Kappa se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones instrumentales diferentes. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

Farm. ROBERTA SILEZZA  
 PRODOTTI ROCHE S.p.A. e s.  
 Divisione Diagnostica  
 DT & APPLICAZIONE LEGAL

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Melvin H. Localization of Antigen in Tissue Cells. (II). Improvements in a Method for Detection of Antigen by Means of Fluorescent Antibody. Albert & Kaplan. 1-13, 1950.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. Prog Allergy.16:9-39, 1972.
3. McCluskey, RT. The value of immunofluorescence in the study of human renal disease. J Exp Med. Sep 1;134(3):Suppl:242s+, 1971.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. Am J Clin Pathol. Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. J Immunol. Aug;95(2):225-9, 1965.
6. Bangerter AR, Murphy WM. Kappa light chain nephropathy. A pathologic study. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.:410(6):531-9, 1987.
7. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
8. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
9. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

Liquid Coverslip™ es una marca comercial de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, NexES® y Ventana® son marcas registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Protegido por las siguientes patentes: Patentes de los EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA MILE MOZZA  
PRODUCES ROCHÉ S.A. S.p.A.  
Division Diagnostica  
DT & APODEADA LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

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

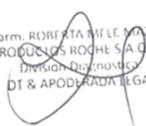


[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

Farm. ROBERTA MILLE MAZZA  
PRODUCES ROCHE S.A. U.E.I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL



## FITC anti-Lambda Primary Antibody

Referencia 760-2684

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-Lambda Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de burro marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra las cadenas ligeras lambda humanas. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de las cadenas lambda en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Lambda está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y con la evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado, en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas. Sólo con receta.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años.<sup>1</sup> Se puede encontrar una visión de conjunto sobre el uso de los anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes efectivos y específicos para los antígenos celulares en Faulk y Hijmans.<sup>2</sup> El uso de esta técnica inmunofluorescente ha tenido como consecuencia una mejor comprensión global de las patologías renales<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-Lambda contiene un anticuerpo policlonal de burro dirigido contra cadenas ligeras lambda humanas purificadas. El anticuerpo se obtiene mediante purificación de la fracción gammaglobulina de burro, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína. A continuación se elimina el exceso de colorante mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje.<sup>5</sup> La nefropatía por cadenas ligeras lambda se ha caracterizado mediante inmunotinción de las cadenas lineales lambda de la membrana basal glomerular y de la membrana basal de los túbulos.<sup>6</sup>

#### Principios y procedimientos

FITC anti-Lambda puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido congelados. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el lugar donde se encuentra el antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-Lambda se ha diluido óptimamente para su uso con los Automated Slide Stainers de Ventana. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para reducir al mínimo la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automatizado. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-Lambda contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-Lambda (policlonal); contiene aproximadamente 100 µg (20 µg/mL) de un anticuerpo policlonal de burro dirigido contra la cadena lambda

humana. El anticuerpo se diluye en tampón derivado del tris-HCL que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 2,1 mg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer. No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Bar code labels (appropriate for negative control and primary antibody being tested)
5. Acetone
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X)\* de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso adecuado para la fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20 a 80X) equipado con un filtro FITC

\* Según sea necesario para las aplicaciones específicas.

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2-8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). La fijación de tejido recomendada es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

1. Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
2. No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
3. Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
4. Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
5. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
6. Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
7. La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
9. Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC Anti-Lambda

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección del protocolo	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	8 minutos	8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes. Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

1. Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
2. Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
3. Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
4. Comenzar el proceso de tinción.
5. Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.
6. Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La

eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

## Procedimientos de control de calidad

### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-Lambda es la amígdala o ganglio linfático congelados. Los componentes tisulares que muestran tinción positiva (tinción de los linfocitos de los centros germinales) se utilizan para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñan tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesado del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,<sup>7</sup> y la NCCLS Approved Guideline<sup>8</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Farm. ROBERTA WELTZ  
 PRODUTOS ROCHÉ S.A. de I.  
 Divisione Diagnostica  
 DT & APODERADA LEGAL

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aún en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos<sup>9</sup>. Póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>10</sup>
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-Lambda se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y patológicos. Se tiñeron diez biopsias de piel y 3 muestras de riñón enfermo con FITC anti-Lambda. Las 13 muestras clínicas mostraron los resultados esperados. Tres de los 13 tejidos produjeron unos resultados de tinción positivos. Un caso de lupus mostró tinción positiva y 2 casos de riñón también mostraron resultados positivos. Se tiñeron once tejidos normales con FITC anti-Lambda y 1 caso de cada uno de los siguientes tejidos fue negativo: cerebro, riñón, hígado, pulmón, células mesoteliales, nervio, próstata, tiroides y útero. Se observó una tinción positiva de linfocitos en amígdala (1 de 1 caso) e intestino delgado (1 de 1 caso).
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección de las cadenas lambda con FITC anti-Lambda y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-Lambda se determinó mediante la tinción de 2 tipos de tejidos diferentes por duplicado en 1 instrumento. Los dos casos demostraron tinciones equivalentes entre los cortes duplicados que contenían el mismo tejido en la misma sesión instrumental. Dos de 2 portaobjetos se tiñeron positivamente. Los dos portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados teniendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en un solo proceso.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-Lambda se determinó mediante la tinción de 2 tipos de tejidos diferentes en 3 instrumentos. Ambos casos demostraron equivalencia entre los 3 instrumentos empleados. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, teniendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Melvin H. Localization of Antigen in Tissue Cells. (II). Improvements in a Method for Detection of Antigen by Means of Fluorescent Antibody. Albert & Kaplan. 1-13, 1950
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. Prog Allergy.16:9-39, 1972.
3. McCluskey RT. The value of immunofluorescence in the study of human renal disease. J Exp Med. Sep 1;134(3):Suppl:242s+, 1971.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. Am J Clin Pathol. Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. J Immunol. Aug; 95(2):225-9, 1965.
6. Tubbs RR, Gephardt GN, McMahon JT, Hall PM, Valenzuela R, Vidt DG.. Light Chain Nephropathy. Am J Med. Aug; 71(2): 263-9, 1981.
7. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
8. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A. (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
9. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6<sup>th</sup> edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## INTELLECTUAL PROPERTY

Liquid Coverslip™ is a trademark of Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, NexES® and Ventana® are registered trademarks of Ventana Medical Systems, Inc.

Covered by the following patents: U.S. Pat. Nos. 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 and foreign counterparts.

Form. ROBERTA MILE MOZZA  
PROCESOS ROCHE S.A. de I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADO LEGAL

**CONTACT INFORMATION**

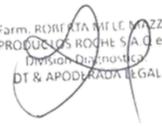
Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755  
USA  
+1 520 887 2155  
+1 800 227 2155 (USA)



[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany



Farm. ROBERTA ANILEZZA  
PRODUCES ROCHE S.A. G.e.L.  
Division Diagnostics  
DT & APODIADA LEGAL

## FITC Anti-Fibrinogen Primary Antibody

Referencia 760-2685

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-Fibrinogen Primary Antibody de Ventana Medical Systems (Ventana®) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el fibrinógeno humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del fibrinógeno en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Fibrinogen está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y con la evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado, en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años.<sup>1</sup> Se puede encontrar una visión de conjunto sobre el uso de los anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes efectivos y específicos para los antígenos celulares en Faulk y Hijmans.<sup>2</sup> El uso de esta técnica inmunofluorescente ha tenido como consecuencia una mejor comprensión global de las patologías renales<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-Fibrinogen contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra el fibrinógeno humano purificado. El anticuerpo se obtiene mediante purificación de la fracción gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína. El exceso de colorante se elimina a continuación mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona posteriormente en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje.<sup>5</sup> La visualización mediante inmunofluorescencia del fibrinógeno en el tejido renal humano se ha documentado con anterioridad.<sup>6</sup> FITC anti-Fibrinogen se une específicamente al fibrinógeno humano y sus productos de degradación. Para una visión de conjunto sobre el fibrinógeno y sus productos de degradación, consultar Kwan y Barlow.<sup>7</sup>

#### Principios y procedimientos

FITC anti-Fibrinogen puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido congelados. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el lugar donde se encuentra el antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-Fibrinogen se ha diluido óptimamente para su uso con los módulos de tinción automatizados. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automática. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-Fibrinogen contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-Fibrinogen; contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra fibrinógeno humano aproximadamente de 1,4 µg/mL. El anticuerpo se diluye en tampón derivado de tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 1,4 mg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X) de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso adecuado para la fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20 a 80X) equipado con un filtro FITC

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2-8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). La fijación de tejido recomendada es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

- Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
- No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
- Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
- Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
- Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
- Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
- Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC anti-Fibrinogen

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección del protocolo	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	FITC anti-Fibrinogen, 8 minutos	FITC anti-Fibrinogen, 8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

- Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
- Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
- Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
- Comenzar el proceso de tinción.
- Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.

- Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK Wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

### Procedimientos de control de calidad

#### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-Fibrinogen es la placenta o tejido que contenga sangre coagulada. La tinción positiva de componentes tisulares se usa para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñen tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

#### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

#### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

#### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>®</sup> y NCCLS Approved Guideline<sup>®</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

#### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aún en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos.<sup>10</sup> Contactar con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>11</sup>
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-Fibrinogen se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y patológicos. Se tiñeron diez biopsias de piel y 5 muestras de riñón enfermo con FITC anti-Fibrinogen que mostraron los resultados esperados. Catorce de los 15 casos teñidos mostraron tinciones positivas. Se tiñeron dieciséis tejidos normales con FITC anti-Fibrinogen, entre ellos: nervio, hígado, amígdala, cerebro, mesotelio, corazón, próstata, pulmón, intestino delgado, piel, útero, estómago, riñón, ganglios linfáticos y tiroides. Los 3 casos teñidos de cada tipo de tejido normal mostraron las tinciones negativas esperadas. Se observó algo de autofluorescencia inespecífica en algunos tejidos, en particular en epitelio, tejido conjuntivo, músculo liso y hepatocitos.
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección del fibrinógeno con FITC anti-Fibrinogen y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-Fibrinogen se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos en la misma sesión del instrumento. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en un solo proceso.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-Fibrinogen se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones instrumentales diferentes. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Melvin H. Localization of Antigen in Tissue Cells. (II). Improvements in a Method for Detection of Antigen by Means of Fluorescent Antibody. Albert & Kaplan. 1-13, 1950.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. Prog Allergy.16:9-39, 1972.
3. McCluskey RT. The value of immunofluorescence in the study of human renal disease. J Exp Med. Sep 1;134(3):Suppl:242s+, 1971.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. Am J Clin Pathol. Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. J Immunol. Aug;95(2):225-9, 1965.
6. Takagi M, Ikeda T, Ishii M, Kimura K, Atarashi K, Uehara Y, Matsuoka H, Murao S. An immunohistochemical study of renal vascular lesions in hypertensive patients. Jpn Heart J. Mar;26(2):235-46, 1985.
7. Kwaan HC, Barlow GH. Nature and biological activities of degradation products of fibrinogen and fibrin. Annu Rev Med.;24:335-44, 1973.
8. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
9. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
10. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
11. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6<sup>th</sup> edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

Liquid Coverslip™ es una marca comercial de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, NexES® y Ventana® son marcas comerciales registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Protegido por las siguientes patentes: Patentes de los EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA SILE MIZZA  
PRODUCES ROCHÉ S.A. S.r.l.  
Divisione Diagnostico  
DT & APOLOGIA LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

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



[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

Farm. ROBERTA MIT LI. MAZZA  
PRODUCOS ROCHE S.A. Q.e.I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

## FITC Anti-C3 Primary Antibody

Referencia 760-2686

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-C3 (complemento 3) Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el C3 humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del componente 3 del complemento en tejidos diana para el C3 (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-C3 está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y con la evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años.<sup>1</sup> En la publicación de Faulk y Humans<sup>2</sup> se puede encontrar una visión de conjunto informativa del uso de anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes eficaces y específicos para los antígenos celulares. El uso de la técnica de inmunofluorescencia ha provocado un mejor entendimiento general de las patologías renales,<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>. Ruddy revisa la importancia de la intervención del C3 en el sistema del complemento.<sup>5</sup> El componente C3 del complemento humano se ha visualizado previamente en piel utilizando inmunofluorescencia.<sup>6</sup> La observación de la presencia o la ausencia del C3 conjugado con inmunoglobulinas constituye es fundamental en el diagnóstico de las patologías renales.<sup>7</sup>

FITC anti-C3 contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra el C3 humano purificado. El anticuerpo se obtiene mediante purificación de la fracción de gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína para producir una razón de fluoresceína a proteína de aproximadamente 3-6 mol/mol. A continuación se elimina el exceso de colorante mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje.<sup>8</sup> El anti-C3 se liga de forma específica al C3 humano y no muestra reactividad con los componentes del complemento C4-C9 o con las proteínas séricas.

#### Principios y procedimientos

FITC anti-C3 puede usarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de los cortes de tejido congelado. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el lugar donde se encuentra el antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-C3 se ha prediluido óptimamente para su uso con los Automated Slide Stainers de Ventana. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automática. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-C3 contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-C3; contiene aproximadamente 440 µg (88 µg/mL) de anticuerpos policlonales de cabra dirigidos contra el C3 humano. El anticuerpo se diluye en tampón derivado de tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 0,5 mg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X) de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso, adecuado para fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20-80X) equipado con un filtro de FITC

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2-8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). La fijación de tejido recomendada es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

- Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
- No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
- Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
- Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
- Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
- Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
- Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC anti-C3

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección de protocolos	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	FITC anti-C3, 8 minutos	FITC anti-C3, 8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

- Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
- Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
- Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
- Comenzar el proceso de tinción.
- Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.

- Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK Wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

## Procedimientos de control de calidad

### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-C3 es el riñón o la piel de casos de lupus que contengan depósitos de C3. La tinción positiva de componentes tisulares se usa para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñan tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>9</sup> y NCCLS Approved Guideline<sup>10</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aún en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos<sup>11</sup>. Contactar con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>12</sup>
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-Kappa se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y enfermos. Se tiñeron diez biopsias de piel y 5 muestras de riñón enfermo con FITC anti-C3. Las 15 muestras clínicas produjeron los resultados clínicos esperados. Once de los 15 tejidos produjeron unos resultados de tinción positivos. Se tiñó una variedad de tejidos normales con FITC anti-C3 y los siguientes tejidos fueron negativos: pulmón, cerebro, tiroides, diafragma y útero. Tanto el nervio y el intestino delgado, 3 de 3 casos fueron negativos, pero mostraron cierta tinción inespecífica de fondo:
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección de C3 con FITC anti-C3 y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-C3 se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos en la misma sesión instrumental. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en un solo proceso.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-C3 se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones instrumentales diferentes. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Melvin H. Localization of Antigen in Tissue Cells. (II). Improvements in a Method for Detection of Antigen by Means of Fluorescent Antibody. Albert & Kaplan. 1-13, 1950.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. Prog Allergy.16:9-39, 1972.
3. McCluskey, RT. The value of immunofluorescence in the study of human renal disease. J Exp Med. Sep 1;134(3):Suppl:242s+, 1971.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. Am J Clin Pathol. Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Ruddy S. Chemistry and biologic activity of the complement system. Transplant Proc. Mar; 6(1):1-7, 1974.
6. Dovezenski N, Billetta R, Gigli I. Expression and localization of proteins of the complement system in human skin J Clin Invest. Nov; 90(5):2000-12, 1992.
7. Leber PD, McCluskey RT. Complement and the immunohistology of renal disease. Transplant Proc. Mar; 6(1):67-76, 1974.
8. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. J Immunol. Aug; 95(2):225-9, 1965.
9. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
10. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
11. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
12. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

Liquid Coverslip™ es una marca comercial de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, NexES® y Ventana® son marcas registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Protegido por las siguientes patentes: Patentes de los EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA MILE MOZZA  
PRODUCOS ROCHE S.A. G.e.I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

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

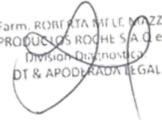


[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

Farm. ROBERTA MILE MAZZA  
PRODUCES ROCHÉ S.A. e.l.  
Division Diagnostics  
DT & APODIADA LEGAL



## FITC anti-C1q Primary Antibody

Referencia 760-2688

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-C1q (complement 1q) Primary Antibody de Ventana Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el C1q humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del componente 1q del complemento en tejidos diana para el C1q (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-C1q está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y con la evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado, en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años.<sup>1</sup> Se puede encontrar una visión de conjunto sobre el uso de los anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes efectivos y específicos para los antígenos celulares en Faulk y Hijmans.<sup>2</sup> El uso de esta técnica inmunofluorescente ha tenido como consecuencia una mejor comprensión global de las patologías renales<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-C1q contiene un anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra el C1q humano purificado. El anticuerpo se obtiene mediante purificación a través de filtración en gel de la fracción de gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína para producir una razón de fluoresceína a proteína de aproximadamente 3 a 6 mol/mol. A continuación se elimina el exceso de colorante mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína con exceso o defecto de marcaje.<sup>5</sup> La detección mediante inmunofluorescencia del C1q en tejidos humanos se ha documentado con anterioridad.<sup>6</sup>

Anti-C1q se une específicamente al complemento 1q humano y no reacciona con otros componentes del complemento ni proteínas séricas.

#### Principios y procedimientos

FITC anti-C1q puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido congelados. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el lugar donde se encuentra el antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-C1q se ha diluido óptimamente para su uso con los Automated Slide Stainers de Ventana. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automática. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-C1q contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-C1q; contiene aproximadamente 333 µg (66,6 µg/mL) de anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra el C1q humano. El anticuerpo se diluye en tampón derivado de tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 0,5 µg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X)\* de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso adecuado para la fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20 a 80X) equipado con un filtro FITC

\* Según sea necesario para las aplicaciones específicas.

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2-8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). La fijación de tejido recomendada es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

- Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
- No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
- Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
- Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
- Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
- Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
- Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05% y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
- Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC anti-C1q

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección del protocolo	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	FITC anti-C1q, 8 minutos	FITC anti-C1q, 8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

- Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
- Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
- Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
- Comenzar el proceso de tinción.
- Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.

- Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK Wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

## Procedimientos de control de calidad

### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-C1q es el tejido renal o cutáneo patológico congelado. La tinción positiva de componentes tisulares se usa para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñen tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesado del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>7</sup> y la NCCLS Approved Guideline<sup>8</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aún en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.

7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>10</sup>
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-C1q se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y patológicos. Se tiñó una serie de tejidos normales con FITC anti-C1q y los siguientes tejidos fueron negativos: pulmón (3 de 3 casos), cerebro (3 de 3 casos), tiroides (3 de 3 casos), útero (3 de 3 casos) y diafragma (3 de 3 casos). Tres de 3 casos de tejido nervioso y de intestino delgado fueron negativos, pero mostraron cierta tinción inespecífica de fondo. Se tuvieron diez biopsias de piel patológica y 5 biopsias de riñón patológico con FITC anti-C1q. Las 15 muestras clínicas mostraron los resultados esperados. Once de los 15 casos teñidos con FITC anti-C1q mostraron tinciones positivas.
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección del C1q con FITC anti-C1q y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-C1q se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados teniendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en un solo proceso.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-C1q se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones instrumentales diferentes. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, teniendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Melvin H. Localization of Antigen in Tissue Cells. (II). Improvements in a Method for Detection of Antigen by Means of Fluorescent Antibody. Albert & Kaplan. 1-13, 1950.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. Prog Allergy.16:9-39, 1972.
3. McCluskey RT. The value of immunofluorescence in the study of human renal disease. J Exp Med. Sep 1;134(3):Suppl:242s+, 1971.
4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. Am J Clin Pathol. Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. J Immunol. Aug;95(2):225-9, 1965.
6. Loos M, Storz R, Muller W, Lemmel EM. Immunofluorescence studies on the subcomponents of the first component of complement (C1): detection of C1q and C1s in different cells of biopsy material and on human as well as on guinea pig peritoneal macrophages. Immunobiology.158(3):213-24, 1981.
7. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
8. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
9. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

## PROPIEDAD INTELECTUAL

Liquid Coverslip™ es una marca comercial de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, NexES® y Ventana® son marcas registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Ventana concede al comprador una licencia de un sólo uso al amparo de las siguientes patentes: Patentes de EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA MILE MOZZA  
PRODUCOS ROCHE S.A. G.e.L.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

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



[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)

**EC REP**

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

Farm. ROBERTA MILLEMAZZA  
PRODUCES ROCHE S.A. G e I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA B.GAL

## FITC Anti-Albumin Primary Antibody

Referencia 760-2699

### INDICACIONES Y USO

#### Uso previsto

Este anticuerpo es para uso diagnóstico *in vitro*.

FITC anti-Albumin Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la albúmina humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de la albúmina humana en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Albumin está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y con la evaluación de los controles apropiados. La evaluación la debe realizar un anatomopatólogo cualificado, en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas. Sólo con receta.

#### Resumen y explicación

Se han utilizado anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos específicos en células o tejidos durante más de 40 años.<sup>1</sup> Se puede encontrar una visión de conjunto sobre el uso de los anticuerpos conjugados con FITC como marcadores inmunofluorescentes efectivos y específicos para los antígenos celulares en Faulk y Hijmans.<sup>2</sup> El uso de esta técnica inmunofluorescente ha tenido como consecuencia una mejor comprensión global de las patologías renales<sup>3</sup> y dérmicas<sup>4</sup>.

FITC anti-Albumin contiene un anticuerpo policlonal de cabra preparado contra la albúmina humana purificada. El anticuerpo se obtiene mediante purificación de la fracción gammaglobulina de cabra, seguida de reacción con isotiocianato de fluoresceína. A continuación se elimina el exceso de colorante mediante diálisis y la globulina conjugada se fracciona en celulosa DEAE para eliminar la proteína marcada en exceso o en defecto.<sup>5</sup> Se ha observado visualización mediante inmunofluorescencia de los depósitos de albúmina de la membrana basal de los túbulos renales en pacientes con nefropatía diabética.<sup>6</sup> FITC anti-Albumin se une específicamente a los dominios de la albúmina humana.

#### Principios y procedimientos

FITC anti-Albumin puede usarse como el anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido congelados. En general, la tinción inmunohistoquímica permite la visualización de los antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) frente al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) frente al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromógeno, con pasos de lavado intermedios. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el lugar donde se encuentra el antígeno. Para los anticuerpos marcados directamente con FITC el fluorocromo está ligado al anticuerpo primario y, por tanto, no se requiere un anticuerpo secundario o una etapa de detección cromógena. El anticuerpo primario se une de manera específica al antígeno diana y por tanto puede visualizarse. Los resultados se interpretan con un microscopio de fluorescencia con el juego apropiado de filtros y facilitan el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos que pueden estar asociados o no con un antígeno concreto.

FITC anti-Albumin se ha diluido óptimamente para su uso con los Automated Slide Stainers de Ventana. Cada paso del protocolo de tinción incluye una incubación durante un tiempo preciso y a una temperatura específica. Al final de cada paso de incubación, los cortes se aclaran en el Automated Slide Stainer de Ventana para detener la reacción y eliminar el material no ligado que podría impedir la reacción deseada en los pasos posteriores. Para minimizar la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos que contiene la muestra, se aplica la solución cubreobjetos en el módulo de tinción automática. Consultar en el Manual de Usuario del Automated Slide Stainer de Ventana los detalles específicos del funcionamiento del instrumento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Reactivos suministrados

FITC anti-Albumin contiene suficiente reactivo para realizar 50 pruebas.

1 Dispensador de 5 mL de FITC anti-Albumin; contiene aproximadamente 0,25 µg (0,05 µg/mL) de anticuerpo policlonal de cabra dirigido contra la albúmina humana. El

anticuerpo se diluye en tampón derivado de tris que contiene una proteína transportadora y conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es aproximadamente de 0,5 mg/mL.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

Este anticuerpo se ha optimado para su uso en un Ventana Automated Slide Stainer No se requiere su reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Una dilución posterior puede dar lugar a una pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca. Las diferencias de procesamiento del tejido y del procedimiento técnico del laboratorio pueden producir una variabilidad significativa de los resultados, necesiéndose el uso periódico de controles (Consultar el apartado de Procedimientos de control de calidad).

#### Material y reactivos necesarios y no suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción pero no se proporcionan:

1. Portaobjetos cargados positivamente
2. Controles de tejido positivo y negativo
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 70 °C ± 5 °C
4. Etiquetas con código de barras (apropiadas para el control negativo y para el anticuerpo primario a prueba)
5. Acetona
6. Cubetas o baños de tinción
7. Cronómetro
8. Agua desionizada o destilada
9. ES®, NexES® IHC, BenchMark® y BenchMark XT Automated Slide Stainers
10. Software específico para el kit de detección (sólo para el ES Automated Slide Stainer)
11. Solución APK Wash concentrada de Ventana (10X) (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
12. Solución prediluida Low Temperature Liquid Coverslip™ de Ventana (ES y NexES IHC Automated Slide Stainers)
13. Solución Reaction Buffer concentrada (10X)\* de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
14. Solución prediluida High Temperature Liquid Coverslip de Ventana (BenchMark y BenchMark XT Automated Slide Stainers)
15. Medio de montaje acuoso adecuado para la fluorescencia
16. Cubreobjetos
17. Microscopio de epifluorescencia (20 a 80X) equipado con un filtro FITC

\* Según sea necesario para las aplicaciones específicas.

#### Conservación y manipulación

Conservar a 2-8 °C. No congelar. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada proceso se debe volver a poner el tapón y almacenar el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta cuando se almacena correctamente. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad para el método de almacenamiento descrito.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Deberá contactar inmediatamente con el distribuidor local de Ventana si observa signos de inestabilidad del reactivo.

#### Extracción y preparación de la muestra para su análisis

Cuando se procesan según el procedimiento habitual, los tejidos congelados son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con un Automated Slide Stainer de Ventana (véase la sección Material y reactivos necesarios no suministrados). La fijación de tejido recomendada es 10 minutos en acetona fría. Pueden producirse resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o de procesos especiales, como la descalcificación de las muestras de médula ósea.

Cada corte debe tener el grosor apropiado y se pondrá en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

1. Adoptar las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como, por ejemplo, xileno o formaldehído).
2. Evitar el contacto de los reactivos con los ojos y las mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lavar con agua abundante.
3. No fumar, comer o beber en las áreas en que se están manipulando las muestras o los reactivos.
4. Las muestras del paciente y todos los materiales en contacto con ellas deben tratarse como si fuesen materiales potencialmente infecciosos y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetear con la boca.
5. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
6. Los tiempos y las temperaturas de incubación que no sean los que se especifican pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
7. La dilución de los reactivos es la óptima y una dilución posterior puede dar lugar a la pérdida de tinción. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es ProClin 300. Los síntomas de sobreexposición a ProClin 300 consisten en irritación de la piel y los ojos, e irritación de las mucosas y las vías respiratorias altas. La concentración de ProClin 300 en este producto es del 0,05% y no cumple los criterios OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de sustancia peligrosa. En sujetos sensibles es posible la aparición de reacciones alérgicas sistémicas.
9. Consulte las autoridades locales o nacionales sobre el método recomendado de eliminación.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Procedimiento detallado

Los Primary Antibodies de Ventana se han optimizado para su uso con un Automated Slide Stainer de Ventana junto a los Detection Kits de Ventana y sus accesorios. Los protocolos de tinción recomendados para los módulos de tinción automatizados se exponen en la Tabla 1. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir o cambiar siguiendo el procedimiento descrito en el Manual del Usuario. Otros parámetros operativos de los módulos de tinción automatizados vienen configurados de fábrica.

Tabla 1. Protocolos de tinción recomendados para FITC anti-Albúmina

Tipo de procedimiento	Plataforma o método	
	ES o NexES IHC	BenchMark o BenchMark XT
Selección del protocolo	Congelado	Congelado
Desparafinación	N/A	N/A
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	No se requiere	No se requiere
Enzima (Protease)	No se requiere	No se requiere
Anticuerpos (primarios)	8 minutos	8 minutos
Contratinción	N/A	N/A

Los procedimientos de tinción en los Automated Slide Stainers de Ventana son los siguientes: Se pueden consultar instrucciones más detalladas y opciones de protocolo adicionales en el Manual del Usuario.

### Para todos los instrumentos

1. Pegar una etiqueta con el código de barras adecuado al protocolo de anticuerpo por realizar.
2. Cargar el anticuerpo primario en la bandeja de reactivos y colocarla en el módulo de tinción automatizado. Comprobar los líquidos y los residuos.
3. Poner los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
4. Comenzar el proceso de tinción.
5. Cuando finalice el proceso, sacar los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.
6. Con el cromógeno FITC, evitar la deshidratación y limpiar. Montar los portaobjetos teñidos con el anticuerpo primario FITC con un medio de montaje acuoso. La

eliminación eficaz de la solución Liquid Coverslip de los portaobjetos tras retirarlos del instrumento reduce en gran medida la autofluorescencia de fondo. Para conseguirlo, aclarar bien los portaobjetos con APK Wash o Reaction Buffer. A continuación los portaobjetos se pueden aclarar en agua destilada y cubrir con cubreobjetos. Los portaobjetos teñidos deben leerse el mismo día de la tinción, y deben almacenarse en un lugar oscuro en un ambiente frío (-20 °C). Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC no son estables, pero la tinción puede conservarse si los anticuerpos se almacenan a -20 °C o -80 °C en la oscuridad. Los portaobjetos teñidos con los anticuerpos primarios FITC pueden extinguirse con el tiempo o con una exposición prolongada a la luz. Evitar la exposición a la luz.

## Procedimientos de control de calidad

### Control de tejido positivo

Se debe procesar un control de tejido positivo cada vez que se realice el procedimiento de tinción. Un ejemplo de un control positivo con FITC anti-Albúmina es el tejido renal o cutáneo patológico congelado. La tinción positiva de componentes tisulares se usa para confirmar que el anticuerpo se ha aplicado y que el instrumento funciona correctamente. Este tejido puede contener células o componentes de tejido que se tiñan tanto positiva como negativamente y sirven como tejidos de control positivo y negativo a la vez. Los tejidos de control deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o cirugía preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de los cortes en estudio. Estos tejidos pueden monitorizar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación del tejido a su tinción. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permitirá el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido que tiene una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar los niveles menores de degradación del reactivo.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y de los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico en las muestras del paciente. Si los controles positivos del tejido no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

### Control de tejido negativo

El mismo tejido que se usa como control de tejido positivo puede usarse como control de tejido negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrecen zonas para un control negativo interno, pero el usuario debe confirmarlo. Los componentes que no tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica e indican una tinción inespecífica de fondo. Si se produce una tinción específica en las áreas de control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas de los controles se deben comunicar inmediatamente al distribuidor local de Ventana. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Ver la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identificar y corregir el problema, y repetir las muestras del paciente.

### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe verificar la especificidad del anticuerpo estudiándolo en tejidos con características de comportamiento conocidas ante la inmunohistoquímica representando a tejidos positivos y negativos conocidos (consultar los Procedimientos de control de calidad expuestos previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de Control de Calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>7</sup> y la NCCLS Approved Guideline<sup>8</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse con cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifiquen los parámetros del procedimiento. Los tejidos mencionados en la sección Resumen de resultados esperados son los adecuados para verificar el ensayo.

### Interpretación de los resultados

El procedimiento de inmunotinción automatizada de Ventana hace que se visualice el antígeno diana con el anticuerpo primario marcado y el fluorocromo unido. Los anticuerpos marcados con FITC dan un producto de reacción de color verde manzana. Un anatomopatólogo con experiencia en procedimientos inmunohistoquímicos debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse antes de afirmar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción con el color

apropiado dentro de las células diana indica una reactividad positiva. Si el control positivo de tejido no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

#### Control de tejido negativo

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar que el anticuerpo primario marca específicamente el antígeno diana. La ausencia de una tinción específica del control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con células o componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, cuando aparece, es de color entre amarillo brillante y verdoso. Esporádicamente también se puede observar una tinción clara del tejido conjuntivo en los cortes de tejidos fijados excesivamente. Puede aparecer autofluorescencia en muestras de tejidos teñidos. Deben usarse las células intactas para interpretar los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas se tiñen inespecíficamente.

#### Tejido del paciente

Las muestras del paciente deben examinarse en último lugar. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de la tinción de fondo del control negativo de reactivo. Como sucede con todas las pruebas inmunohistoquímicas, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se detectó y no que el antígeno esté ausente de las células o tejido estudiados. Si es necesario, utilizar un panel de anticuerpos para facilitar la identificación de reacciones falso negativas (ver la sección Resumen de resultados esperados). También debe examinarse la morfología de cada muestra de tejido utilizando un corte teñido con hematoxilina y eosina cuando se interpreta el resultado de una prueba de inmunohistoquímica. Los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado.

### LIMITACIONES

#### Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos para inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
2. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir artefactos, bloqueo del anticuerpo o falso negativos. Pueden obtenerse resultados incoherentes por variaciones en los métodos de fijación e inclusión o por las irregularidades inherentes del propio tejido.
3. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está previsto para su uso en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para obtener una preparación teñida. La tinción se debe realizar en un laboratorio certificado, con la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.
4. Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos del método recomendado puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
5. Este producto no está diseñado para la citometría de flujo. No se han determinado las características de su comportamiento.
6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos previamente no estudiados. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas aún en grupos de tejido estudiados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos patológicos.<sup>9</sup> Póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana en caso de reacciones inesperadas.
7. Pueden verse resultados falso positivos debido a la unión de proteínas por mecanismos no inmunitarios.
8. Como sucede con todas las pruebas de la inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se detectó y no que el antígeno estuviese ausente de las células o tejido estudiados.

#### Limitaciones específicas

1. El anticuerpo se ha optimado para un tiempo de incubación de 8 minutos cuando se usa con los Automated Slide Stainers de Ventana. Debido a variaciones en la fijación del tejido, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información sobre las variables de fijación, consultar "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>10</sup>
2. El anticuerpo detecta los antígenos que sobreviven a la fijación y el corte habituales. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

### RESUMEN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

1. La especificidad de FITC anti-Albúmina se determinó mediante un estudio que demostró la tinción adecuada de tejidos normales y patológicos. Se tiñó una serie de tejidos normales con FITC anti-Albúmina y los siguientes tejidos fueron negativos: pulmón (3 de 3 casos), cerebro (3 de 3 casos), tiroides (3 de 3 casos) y diafragma (3 de 3 casos). Para intestino delgado, 3 de 3 casos fueron negativos, pero mostraron cierta tinción inespecífica de fondo. Los tres casos de tejido nervioso mostraron tinción positiva de las vainas de mielina y los tres casos de útero y diafragma mostraron tinción positiva en el tejido conjuntivo. Se tiñeron diez biopsias de piel patológica y 3 biopsias de riñón patológico con FITC anti-Albúmina. Las 13 muestras clínicas mostraron los resultados esperados. Diez de los 13 casos teñidos con FITC anti-Albúmina mostraron tinciones positivas.
2. La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. Cualquier manipulación inadecuada del tejido durante la fijación, corte, embebido o almacenamiento que altere la antigenicidad debilita la detección de la albúmina con FITC anti-Albúmina y puede dar resultados falso negativos.
3. La reproducibilidad intraanálisis de las tinciones con FITC anti-Albúmina se determinó mediante la tinción de 5 portaobjetos que contenían los mismos tejidos. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con la misma intensidad. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad intraanálisis de los resultados tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en un solo proceso.
4. La reproducibilidad interanálisis de las tinciones con FITC anti-Albúmina se determinó mediante la tinción de portaobjetos que contenían los mismos tejidos en 5 sesiones instrumentales diferentes. Todos los portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad similar. Los usuarios deben verificar la reproducibilidad interanálisis de los resultados, tiñendo varios juegos de cortes seriados con una densidad de antígeno baja, media y alta en días distintos.

### RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo tiene una tinción más débil de lo esperado, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental, o ensayo, para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales.
2. Si el control positivo es negativo, se deberá comprobar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, se deben comprobar los demás controles positivos procesados durante el mismo procedimiento instrumental para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios habituales. Los tejidos pueden haber sido obtenidos, fijados o desparafinados incorrectamente. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la obtención, conservación y fijación.
3. Si la tinción específica del anticuerpo es demasiado intensa, el proceso debe repetirse acortando el tiempo de incubación por intervalos de 4 minutos hasta que se alcance la intensidad deseada de la tinción.
4. Si los cortes de tejidos se desprenden del portaobjetos durante el lavado, comprobar que los portaobjetos están cargados positivamente.
5. Para acciones correctoras, consultar la sección de Procedimiento detallado, el Manual del Usuario del Módulo de tinción automatizado o póngase en contacto con el distribuidor local de Ventana.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Coons AH, Melvin H. Localization of Antigen in Tissue Cells. (II). Improvements in a Method for Detection of Antigen by Means of Fluorescent Antibody. *Albert & Kaplan*. 1-13, 1950.
2. Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. *Prog Allergy*. 16:9-39, 1972.
3. McCluskey RT. The value of immunofluorescence in the study of human renal disease. *J Exp Med*. Sep 1;134(3):Suppl:242s+, 1971.

4. Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. *Am J Clin Pathol.* Apr;105(4):417-29, 1996.
5. Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. *J Immunol.* Aug;95(2):225-9, 1965.
6. Miller K, Michael AF. Immunopathology of renal extracellular membranes in diabetes mellitus. Specificity of tubular basement-membrane immunofluorescence. *Diabetes.* Aug; 25(8):701-8, 1976.
7. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
8. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
9. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem* 66(4): 194-199, 1991.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

#### PROPIEDAD INTELECTUAL

Liquid Coverslip™ es una marca comercial de Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, NexES® y Ventana® son marcas comerciales registradas de Ventana Medical Systems, Inc.

Protegido por las siguientes patentes: Patentes de los EE.UU. N° 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 y las correspondientes en el extranjero.

Farm. ROBERTA WILLE MOZZA  
PRODUCLOS ROCHÉ S.A. G e I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755

USA

+1 520 887 2155

+1 800 227 2155 (USA)



[www.ventanamed.com](http://www.ventanamed.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

Farm. ROBERTA MELICOMAZZA  
PRODUTTORES ROCCHE S.p.A. C.e.L.  
Divisione Diagnostica  
DT & APODIADA LEGAL



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:**

**Referencia:** Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica)

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 71 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE  
Date: 2024.04.18 16:07:21 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL  
ELECTRONICA - GDE  
Date: 2024.04.18 16:07:24 -03:00



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-000079-24-6

---

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN  
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-000079-24-6

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

**DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS**

Nombre Descriptivo: CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody y otros.

Marca comercial: VENTANA.

Modelos:

- 1) (N° de catálogo Roche: 05479282001, N° de catálogo Ventana: 790-4366) CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody.
- 2) (N° de catálogo Roche: 05479347001, N° de catálogo Ventana: 790-4365) CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody.
- 3) (N° de catálogo Roche: 05267005001, N° de catálogo Ventana: 760-2513) CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11)

Primary Antibody.

4) (N° de catálogo Roche: 05278104001, N° de catálogo Ventana: 790-2914) CONFIRM anti S-100 (4C4.9)

Primary Antibody.

5) (N° de catálogo Roche: 05267919001, N° de catálogo Ventana: 760-2680) FITC Anti-IgG Primary Antibody.

6) (N° de catálogo Roche: 05267927001, N° de catálogo Ventana: 760-2681) FITC Anti-IgA Primary Antibody.

7) (N° de catálogo Roche: 05267935001, N° de catálogo Ventana: 760-2682) FITC Anti-IgM Primary Antibody.

8) (N° de catálogo Roche: 05267943001, N° de catálogo Ventana: 760-2683) FITC Anti-Kappa Primary Antibody.

9) (N° de catálogo Roche: 05267951001, N° de catálogo Ventana: 760-2684) FITC Anti-Lambda Primary Antibody.

10) (N° de catálogo Roche: 05267960001, N° de catálogo Ventana: 760-2685) FITC Anti-Fibrinogen Primary Antibody.

11) (N° de catálogo Roche: 05267978001, N° de catálogo Ventana: 760-2686) FITC Anti-C3 Primary Antibody.

12) (N° de catálogo Roche: 05267994001, N° de catálogo Ventana: 760-2688) FITC anti-C1q Primary Antibody.

13) (N° de catálogo Roche: 05268087001, N° de catálogo Ventana: 760-2699) FITC Anti-Albumin Primary Antibody.

Indicación/es de uso:

1) El anticuerpo CONFIRM anti-Melanosome (HMB45) Mouse Monoclonal Primary Antibody está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la proteína de premelanosoma (PMEL) mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

2) El anticuerpo CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la tirosinasa mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

3) El anticuerpo CONFIRM anti-Desmin (DE-R-11) está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la desmina mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

4) El anticuerpo CONFIRM anti-S100 (4C4.9) Primary Antibody es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa inmunohistoquímica de la proteína S100 mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

5) FITC anti-IgG (immunoglobulin G) Primary Antibody es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgG humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina G en tejidos diana de la IgG (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgG está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

6) FITC anti-IgA (immunoglobulin A) Primary Antibody es un anticuerpo policlonal procedente de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgA humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina A en tejidos diana de la IgA (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-IgA está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

7) FITC anti-IgM (immunoglobulin M) Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal procedente cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la IgM humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para ayudar a la identificación de la inmunoglobulina M en tejidos diana de la IgM (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o

dérmicas). FITC anti-IgM está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

8) FITC anti-Kappa Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra las cadenas ligeras kappa de las inmunoglobulinas humanas. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de las cadenas kappa en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Kappa está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

9) Anticuerpo policlonal de burro marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra las cadenas ligeras lambda humanas. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de las cadenas lambda en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Lambda está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

10) FITC anti-Fibrinogen Primary Antibody de Ventana Medical Systems (Ventana®) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el fibrinógeno humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del fibrinógeno en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Fibrinogen está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

11) Anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el C3 humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del componente 3 del complemento en tejidos diana para el C3 (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-C3 está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

12) FITC anti-C1q (complement 1q) Primary Antibody de Ventana Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra el C1q humano. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación del componente 1q del complemento en tejidos diana para el C1q (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-C1q está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

13) FITC anti-Albumin Primary Antibody de Ventana® Medical Systems (Ventana) es un anticuerpo policlonal de cabra marcado con fluoresceína y dirigido específicamente contra la albúmina humana. Este reactivo debe utilizarse junto con un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de la albúmina humana en tejidos diana (por ejemplo, para el diagnóstico de patologías renales o dérmicas). FITC anti-Albumin está previsto para la tinción cualitativa en laboratorio de cortes de tejido congelado en un Automated Slide Stainer de Ventana.

Forma de presentación: 1) a 13) Envases por 50 determinaciones, conteniendo: un dispensador x 5 ml de anticuerpo.

Período de vida útil: 1) a 13) 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 - 8 °C.

Nombre del fabricante:

Ventana Medical Systems Inc.

Lugar de elaboración:

Ventana Medical Systems Inc. 1910 E. Innovation Park Dr. Tucson, AZ 85711, USA.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 740-865 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

N° 1-0047-3110-000079-24-6

N° Identificador Trámite: 55609

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta Maria  
Date: 2024.04.24 18:50:01 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL  
ELECTRONICA - GDE  
Date: 2024.04.24 18:50:03 -03:00