FITC Anti-Kappa Primary Antibody

REF 760-2683

05267943001

IVD Σ 50

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

FITC anti-Kappa Primary Antibody é um anticorpo policlonal marcado com fluoresceína. Destina-se a ser utilizado no laboratório na deteção imunofluorescente qualitativa de cadeias leves de imunoglobulina Kappa através de microscopia de fluorescência em secções de tecido congeladas coradas num instrumento BenchMark IHC/ISH.

Este produto deverá ser interpretado por um patologista qualificado, em conjunto com um exame histológico, a informação clínica relevante e os controlos adequados.

Este anticorpo destina-se a utilização em diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os imunocomplexos (IC) são macromoléculas constituídas por anticorpos ligados a diferentes antigénios.[1,2] Os IC formam-se como parte da resposta imunitária normal e podem acumular-se se não forem eliminados de forma eficiente por mecanismos celulares normais.[2] O excesso de IC pode circular nos fluidos orgânicos ou depositar-se em vários tecidos, daí resultando inflamação e danos tecidulares a nível local ou sistémico.[1,2] Os rins removem os resíduos metabólicos tóxicos do sangue e algumas doenças renais são caraterizadas pela deposição de IC que podem conter imunoglobulinas (Ig).[2]

As Ig são também constituídas por duas cadeias pesadas e leves idênticas.[3,4]. Os dois tipos de cadeias leves, Kappa e Lambda, são mutuamente exclusivos e os respetivos domínios variáveis permitem o reconhecimento de um em cada 10^{11} possíveis antigénios.[4-6]

As Ig podem formar IC com antigénios, que formam depósitos tecidulares em vários órgãos.[2] Em certas doenças, podem ser detetadas quantidades anómalas de IC e deposições de IC nos tecidos e órgãos.[2] As doenças renais, incluindo, entre outras, a glomerulonefrite, podem ser caraterizadas por depósitos de IC formados por várias Ig e proteínas do complemento.[7] Coletivamente, as doenças renais imunomediadas, incluindo a glomerulonefrite, são um grupo alargado de condições em que um processo autoimune desregulado é a força motriz predominante subjacente ao início da inflamação e lesão renal.[7-9] Estas doenças podem ser caraterizadas por depósitos de IC compostos por um ou mais dos seguintes componentes: Ig (por ex., IgG, IgM, IgA), cadeias leves kappa e lambda, fibrinogénio, C3 e/ou C1q.[7-9]

FITC anti-Kappa Primary Antibody pode ser utilizado para ajudar o patologista na identificação da deposição de imunocomplexos associados a várias patologias renais.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

FITC Anti-Kappa Primary Antibody liga-se às cadeias leves de imunoglobulina Kappa humana em secções de tecido congeladas. Em geral, a coloração imuno-histoquímica permite a visualização de antigénios através da aplicação sequencial de um anticorpo específico e vários componentes de deteção, onde a ativação enzimática de um cromogénio resulta num produto de reação visível no local do antigénio. No caso dos anticorpos marcados com FITC, o fluorocromo está ligado diretamente ao anticorpo primário, pelo que não é necessária uma cascata de deteção adicional. O anticorpo primário liga-se especificamente ao antigénio alvo e pode então ser visualizado. Os resultados são interpretados utilizando um microscópio de fluorescência com o conjunto de filtros apropriado.

MATERIAIS FORNECIDOS

FITC Anti-Kappa Primary Antibody contém reagente suficiente para 50 testes.

Um dispensador de 5 mL de FITC Anti-Kappa Primary Antibody contém aproximadamente 1.5 µg de um anticorpo policlonal de cabra marcado com FITC.

O anticorpo encontra-se diluído em tampão Tris-HCl com proteína transportadora e 0.10% de ProClin 300, um conservante.

A concentração específica do anticorpo é de aproximadamente 0.3 µg/mL.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os reagentes de coloração, como os componentes auxiliares, incluindo lâminas de controlo tecidular positivo e negativo, não são fornecidos.

Os produtos indicados na folha de métodos podem não estar todos disponíveis em todas as regiões. Consulte o seu representante de assistência local.

Os seguintes reagentes e materiais podem ser necessários para a coloração, mas não são fornecidos:

1. Tecido de controlo recomendado
2. Lâminas de microscópio carregadas positivamente
3. EZ Prep Concentrate (10X) (Ref. 950-102 / 05279771001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Ref. 950-300 / 05353955001)
5. LCS (Predilute) (Ref. 650-010 / 05264839001)
6. LCS (ULTRA Predilute) (Ref. 650-210 / 05424534001)
7. Equipamento de laboratório de uso genérico
8. Instrumento BenchMark IHC/ISH
9. Meios de montagem aquosos, adequados para fluorescência
10. Lamela de cobertura
11. Microscópio de epifluorescência (20-80X) equipado com um filtro FITC.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Após a receção e quando não estiver a ser utilizado, conservar entre 2-8 °C. Não congelar.

Para garantir uma correta distribuição do reagente e a estabilidade do anticorpo, volte a colocar a tampa do dispensador após cada utilização e coloque o dispensador imediatamente no frigorífico na posição vertical.

Cada dispensador de anticorpos tem indicada a respetiva data de validade. Quando corretamente conservado, o reagente permanece estável até à data indicada na etiqueta. Não utilizar o reagente depois de ultrapassada a data de validade.

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os tecidos congelados processados regularmente são adequados para utilização com este anticorpo primário quando utilizados com instrumentos BenchMark IHC/ISH. O fixador de tecido recomendado são 10 minutos em acetona fria. Poderão ocorrer resultados variáveis em consequência de fixação prolongada ou de processos especiais, tais como a descalcificação de preparações de medula óssea.

A conservação de tecidos congelados a -80 °C durante períodos prolongados, que podem ir até 5 anos, preserva a qualidade das proteínas.[10]

Cada secção deve ser cortada com aproximadamente 4 µm de espessura e montada numa lâmina carregada positivamente.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Para utilização em diagnóstico in vitro (IVD).
2. Apenas para utilização profissional.
3. **ADVERTÊNCIA**: Nos Estados Unidos, a Lei Federal restringe a venda deste dispositivo a um médico ou mediante receita médica. (Rx Only).
4. Não utilizar num número de testes superior ao especificado.
5. A solução ProClin 300 é utilizada como conservante neste reagente. Está classificada como irritante e pode causar sensibilização através do contacto com a pele. Tome as precauções razoáveis ao manusear a mesma. Evite o contacto dos reagentes com os olhos, a pele e as membranas mucosas. Utilize luvas e vestuário de proteção.
6. As lâminas carregadas positivamente podem ser suscetíveis a pressões ambientais que podem ter como consequência uma coloração inadequada. Contacte o representante da Roche para mais informações sobre como utilizar estes tipos de lâminas.
7. Os materiais de origem humana ou animal devem ser manuseados como materiais que envolvem risco de contaminação e eliminados adotando as devidas precauções. Em caso de exposição, devem ser seguidas as diretivas de saúde das autoridades responsáveis.[11,12]
8. Evite o contacto dos reagentes com os olhos e as membranas mucosas. Se os reagentes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância.
9. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois tal poderá dar origem a resultados incorretos.

10. Para mais informações acerca da utilização deste dispositivo, consulte o Manual do utilizador do instrumento BenchMark IHC/ISH, bem como as instruções de utilização de todos os componentes necessários em dialog.roche.com.
11. Consulte as autoridades locais e/ou estatais no que se refere ao método de eliminação recomendado.
12. A etiquetagem de segurança do produto segue principalmente as diretrizes do GHS da UE. Ficha de dados de segurança disponível para utilizadores profissionais a pedido.
13. Para reportar situações graves suspeitas relacionadas com este dispositivo, contacte o representante local da Roche e a autoridade competente do Estado-Membro ou do País onde o utilizador está estabelecido.

Este produto contém componentes classificados da seguinte forma, nos termos do disposto no Regulamento (CE) N.º 1272/2008:

Tabela 1. Informações sobre os perigos.

Perigo	Código	Advertência
Aviso	H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
	H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
	P261	Evitar respirar névoas ou vapores.
	P273	Evitar a libertação para o ambiente.
	P280	Usar luvas de proteção.
	P333 + P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: Consulte um médico.
	P362 + P364	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
	P501	Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de tratamento de resíduos apropriado.

Este produto contém CAS # 55965-84-9, massa de reação de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

PROCEDIMENTO DE COLORAÇÃO

Os anticorpos primários VENTANA marcados com FITC foram desenvolvidos para utilização em instrumentos BenchMark IHC/ISH em combinação com acessórios VENTANA. Consulte a Tabela 2 abaixo para obter mais informações sobre os protocolos de coloração recomendados.

Este anticorpo foi otimizado para tempos de incubação específicos, mas o utilizador terá de validar os resultados obtidos com este reagente.

Os parâmetros para os procedimentos automáticos podem ser apresentados, impressos e editados de acordo com o procedimento contido no Manual do utilizador do instrumento.

Para mais informações sobre a utilização correta deste dispositivo, consulte a folha de métodos do dispensador em linha associado ao P/N 760-2683.

Tabela 2. Protocolos de coloração recomendados para FITC Anti-Kappa Primary Antibody em instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimento	Método	
	XT	ULTRA ou ULTRA PLUS[a]
Anticorpo fluorescente	Selecionado, 8 minutos	Selecionado, 8 minutos

[a]Foi demonstrada concordância entre os instrumentos BenchMark ULTRA e BenchMark ULTRA PLUS utilizando ensaios representativos.

Devido à variação na fixação e no processamento de tecidos, bem como nos instrumentos laboratoriais gerais e nas condições ambientais, poderá ser necessário aumentar ou diminuir a incubação do anticorpo primário com base nas amostras individuais utilizadas e na preferência de leitor. Para mais informações sobre as variáveis da fixação, consulte "Immunohistochemistry Principles and Advances".[13]

Quando o ensaio estiver concluído, remova as lâminas do instrumento BenchMark IHC/ISH. No caso do cromogénio FITC, não desidrate e limpe. Monte as lâminas coradas com anticorpo primário FITC com meio de montagem aquoso. A remoção eficiente de Liquid Coverslip Solution das lâminas depois de serem removidas do instrumento irá reduzir em grande medida a autofluorescência de fundo. Para o conseguir, enxague as lâminas muito bem em Reaction Buffer. As lâminas podem depois ser enxaguadas em água destilada e ser-lhes aplicada a coverslip. As lâminas coradas devem ser lidas no mesmo dia da coloração, e devem ser armazenadas em local escuro e num ambiente frio (-20 °C ou -80 °C). As lâminas coradas com anticorpos primários FITC podem ir perdendo a coloração com o passar do tempo ou pelo efeito da exposição prolongada à luz. Evite a exposição à luz.

CONTROLO TECIDULAR POSITIVO

Um controlo tecidular deverá ser incluído em cada processo de coloração. A prática laboratorial ideal deve incluir uma secção de controlo positivo na mesma lâmina que contém o tecido de teste. Isto ajuda a identificar quaisquer falhas na aplicação dos reagentes na lâmina. Um tecido com coloração positiva fraca é o mais adequado para o controlo de qualidade. O tecido de controlo poderá conter elementos de coloração positiva e negativa e servir como controlo positivo e negativo. O tecido de controlo deverá ser uma amostra recém-colhida de autópsia, biopsia ou cirurgia, preparada ou fixada o mais cedo possível e de forma idêntica à das secções de teste.

Os controlos tecidulares positivos conhecidos deverão ser utilizados apenas para monitorizar o desempenho dos reagentes e instrumentos, e não para auxiliar na determinação de um diagnóstico específico de amostras de teste. Se os controlos tecidulares positivos não demonstrarem uma coloração positiva, os resultados da amostra de teste deverão ser considerados inválidos.

Entre os exemplos de tecido de controlo positivo para o anticorpo FITC Anti-Kappa incluem-se a amígdala ou o gânglio linfático congelado.

INTERPRETAÇÃO DA COLORAÇÃO/RESULTADOS PREVISTOS

O procedimento automatizado de imunocoloração Ventana faz com que o antigénio alvo seja visualizado com o anticorpo primário marcado e o fluorocromo ligado. A coloração não específica, caso esteja presente, irá ser de um tom amarelo vivo a esverdeado. Também é possível observar uma coloração ligeira esporádica de tecido conjuntivo em secções de tecidos que tenham sido fixadas excessivamente. Pode estar presente autofluorescência em amostras de tecido coradas.

Um patologista qualificado com experiência em procedimentos de imunofluorescência deverá avaliar os controlos positivos e negativos antes de interpretar os resultados.

LIMITAÇÕES ESPECÍFICAS

Os ensaios podem não estar todos registados em todos os instrumentos. Contacte o seu representante local da Roche para obter mais informações.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

DESEMPENHO ANALÍTICO

Foram realizados testes de coloração para sensibilidade, especificidade e precisão, e os resultados estão listados abaixo.

Sensibilidade e especificidade

As tabelas abaixo indicam a reatividade do produto em vários tecidos congelados normais e neoplásicos, bem como em tecidos de patologia renal (lúpus renal). No tecido renal, o estado positivo de Kappa é sugestivo de, mas não confirma, presença de depósitos de IC.

Tabela 3. A sensibilidade/especificidade de FITC Anti-Kappa Primary Antibody foi determinada testando tecidos patológicos normais e da indicação congelados.

Tecido	N.º de casos positivos/totais	Tecido	N.º de casos positivos/totais
Cérebro hemisférico (cérebro)	0/4	Timo	3/3
Cerebelo	0/3	Mieloide (medula óssea)	0/3
Glândula suprarrenal	0/3	Pulmão	0/4
Ovário	0/4	Coração	0/3

Tecido	N.º de casos positivos/totais	Tecido	N.º de casos positivos/totais
Pâncreas	1/4	Esófago	3/3
Placenta	0/3	Estômago	3/4
Glândula pituitária	0/3	Intestino delgado	0/1
Testículo	0/3	Cólon	3/4
Tiroide	0/3	Fígado	0/4
Mama	0/4	Uréter	0/3
Baço	0/3	Rim	0/4
Amígdala	1/1	Rim (lúpus)	5/5
Útero	0/4	Próstata	0/4
Músculo estriado	0/3	Colo do útero	0/3
Músculo	0/1	Pele	0/4
Espinal medula	0/3	Gânglios linfáticos	3/3
Vaso sanguíneo (artéria)	0/3	Trompa de Falópio	0/3

Tabela 4. A sensibilidade/especificidade de FITC Anti-Kappa Primary Antibody foi determinada testando vários tecidos neoplásicos congelados.

Patologia	N.º de casos positivos/totais
Glioblastoma (cérebro hemisférico)	0/1
Adenocarcinoma (ovário)	1/1
Adenocarcinoma (pâncreas)	0/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/1
Adenocarcinoma (pulmão)	0/1
Adenocarcinoma (estômago)	1/1
Linfoma não-Hodgkin (intestino delgado)	0/1
Adenocarcinoma (colorretal)	0/1
Adenocarcinoma (fígado)	1/1
Carcinoma de células claras (rim)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	0/1
Adenocarcinoma (útero)	0/1
Melanoma (pele)	0/1
Leiomiossarcoma (músculo liso)	0/1

Precisão

Os estudos de precisão de FITC Anti-Kappa Primary Antibody foram realizados para demonstrar:

- Precisão do anticorpo entre lotes.
- Precisão intraensaio e entre dias em instrumentos BenchMark ULTRA.
- Precisão entre instrumentos nos instrumentos BenchMark XT e BenchMark ULTRA.
- Precisão entre plataformas entre os instrumentos BenchMark XT e BenchMark ULTRA.

Todos os estudos cumpriram os respetivos critérios de aceitação.

A precisão no instrumento BenchMark ULTRA PLUS foi demonstrada utilizando ensaios representativos. Os estudos incluíram a repetibilidade intraensaio e a precisão intermédia entre dias e entre ensaios. Todos os estudos cumpriram os respetivos critérios de aceitação.

REFERÊNCIAS

1. Theofilopoulos AN, Dixon FJ. Immune Complexes in Human Diseases: A Review. Am J Pathol. 1980;100(2):529-594.
2. Aibara N, Ohyama K. Revisiting Immune Complexes: Key to Understanding Immune-Related Diseases. Adv Clin Chem. 2020;96:1-17.
3. Melchers F. Checkpoints That Control B Cell Development. J Clin Invest. 2015;125(6):2203-221.
4. Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-Cell Biology and Development. J Allergy Clin Immunol. 2013;131(4):959-97.
5. Grattendick K, Pross S. Immunoglobulins. In: Xpharm: The Comprehensive Pharmacology Reference.2007:1-6.
6. Lucas JS, Murre C, Feeney AJ, et al. The Structure and Regulation of the Immunoglobulin Loci. In: Molecular Biology of B Cells.2015:1-11.
7. Sethi S, Haas M, Markowitz GS, et al. Mayo Clinic/Renal Pathology Society Consensus Report on Pathologic Classification, Diagnosis, and Reporting of Gn. J Am Soc Nephrol. 2016;27(5):1278-128.
8. Glassrock RJ, Cohen AH. The Primary Glomerulopathies. Dis Mon. 1996;42(6):329-38.
9. Kdigo Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. 2012.
10. Auer H, Mobley JA, Ayers LW, et al. The effects of frozen tissue storage conditions on the integrity of RNA and protein. Biotech Histochem 2014;89(7): 518–528.
11. Normas de saúde e segurança profissionais: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
12. Diretiva 2000/54/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 18 de setembro de 2000, relativa à proteção dos trabalhadores contra riscos ligados à exposição a agentes biológicos durante o trabalho.
13. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

NOTA: Neste documento, é sempre utilizado o ponto como separador decimal para marcar o limite entre a parte inteira e as partes fracionais de um número decimal. Não são utilizados separadores de milhares.

Símbolos

Ventana utiliza os seguintes símbolos e sinais, além dos listados na norma ISO 15223-1 (para os EUA: consultar dialog.roche.com para a definição dos símbolos utilizados):

GTIN	Número Global de Item Comercial
UDI	Identificação única de dispositivo
	Indica a entidade que importa o dispositivo médico para a União Europeia

HISTÓRICO DE REVISÕES

Rev	Atualizações
C	Foram realizadas atualizações nas secções Utilização pretendida, Resumo e explicação, Princípio do procedimento, Materiais fornecidos, Materiais necessários, mas não fornecidos, Conservação e estabilidade, Preparação das amostras, Avisos e precauções, Procedimento de coloração, Controlo tecidular positivo, Interpretação da coloração/resultados previstos, Limitações específicas, Desempenho analítico, Referências, Símbolos, Propriedade intelectual e Informações de contacto. Foi adicionado o instrumento BenchMark ULTRA PLUS.

PROPRIEDADE INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK e o logótipo VENTANA são marcas comerciais da Roche.
Todas as restantes marcas comerciais são propriedade dos respetivos titulares.
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMAÇÕES 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

EC REP

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

CE 0123