

FITC Anti-Kappa Primary Antibody

REF

760-2683

05267943001

IVD
 50

USO PREVISTO

FITC anti-Kappa Primary Antibody è un anticorpo policlonale marcato con fluoresceina. È destinato all'uso in laboratorio per la rilevazione immunofluorescente qualitativa delle catene leggere immunoglobuliniche kappa mediante microscopia a fluorescenza in sezioni di tessuto congelato sottoposto a colorazione su uno strumento BenchMark IHC/ISH.

I risultati ottenuti tramite questo prodotto devono essere interpretati da un patologo qualificato in un quadro che consideri anche gli esami istologici, i dati clinici pertinenti e i controlli adeguati.

Questo anticorpo è indicato per uso diagnostico in vitro (IVD).

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Gli immunocomplessi (IC) sono macromolecole costituite da anticorpi legati a differenti antigeni.^{1,2} Gli IC si formano nel contesto della normale risposta immunitaria e possono accumularsi, se non vengono efficientemente rimossi dai normali meccanismi cellulari.² Gli IC in eccesso possono circolare nei liquidi corporei o depositarsi in vari tessuti, determinando infiammazione e danno tissutale a livello locale o sistemico.^{1,2} I reni rimuovono i prodotti di scarto tossici del metabolismo dal sangue e alcune patologie renali sono caratterizzate dalla deposizione di IC, che possono contenere immunoglobuline (Ig).²

Le Ig sono anche composte da due identiche catene pesanti e leggere.^{3,4} I due tipi di catene leggere, Kappa e Lambda, sono mutuamente esclusive e i loro domini variabili consentono il riconoscimento di uno tra 10¹¹ possibili antigeni.⁴⁻⁶

Le IgG possono formare IC con degli antigeni, cosa che determina depositi nei tessuti in vari organi.² Quantità anomale di IC e deposizioni di IC nei tessuti e negli organi possono essere osservate in alcune patologie.² Alcune condizioni renali, inclusa, ma senza limitarsi, la glomerulonefrite, possono essere caratterizzate da depositi di IC formati da varie Ig e proteine del complemento.⁷ Collettivamente, le malattie renali immunomediate, inclusa la glomerulonefrite, sono un ampio gruppo di condizioni nelle quali un processo autoimmune disregolato rappresenta la forza causativa principale sottostante all'insorgenza di infiammazione e danno renale.⁷⁻⁹ Tali patologie possono essere caratterizzate da depositi di IC composti da uno o più dei seguenti componenti: Ig (ad esempio, IgG, IgM, IgA), catene leggere kappa e lambda, fibrinogeno, C3 e/o C1q.⁷⁻⁹ FITC anti-kappa Primary Antibody può essere utilizzato per aiutare il patologo a identificare una deposizione di immunocomplessi associata a varie patologie renali.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

FITC Anti-Kappa Primary Antibody si lega alle catene leggere immunoglobuliniche kappa umane in sezioni di tessuto congelato. In generale, la colorazione immunostochimica consente la visualizzazione di antigeni tramite l'applicazione sequenziale di uno specifico anticorpo e di vari componenti di rilevazione, nei quali l'attivazione enzimatica di un cromogeno produce un prodotto di reazione visibile in corrispondenza del sito antigenico. Per gli anticorpi marcati con FITC, il fluorocromo è collegato direttamente all'anticorpo primario, e pertanto non è richiesta un'ulteriore cascata di rilevazione. L'anticorpo primario si lega in maniera specifica all'antigene bersaglio e può quindi essere visualizzato. I risultati sono interpretati utilizzando un microscopio a fluorescenza con un appropriato set di filtri.

MATERIALI FORNITI

FITC Anti-Kappa Primary Antibody contiene una quantità di reagente sufficiente per 50 test.

Un erogatore da 5 mL di FITC Anti-Kappa Primary Antibody contiene circa 1.5 µg di un anticorpo policlonale di capra marcato con FITC

L'anticorpo è diluito in tampone Tris-HCl con proteina di trasporto e 0.10% di conservante ProClin 300.

La concentrazione dell'anticorpo specifico è di circa 0.3 µg/mL.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

I reagenti di colorazione, quali componenti ausiliari, compresi i vetrini dei tessuti di controllo positivo e negativo, non sono forniti.

È possibile che non tutti i prodotti elencati nella scheda metodologica siano disponibili in tutte le aree geografiche. Rivolgersi al rappresentante dell'assistenza locale.

I reagenti e materiali seguenti possono essere necessari per la colorazione ma non sono forniti:

1. Tessuto di controllo consigliato
2. Vetrini per microscopia, caricati positivamente
3. EZ Prep Concentrate (10X) (n. di cat. 950-102 / 05279771001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n. di cat. 950-300 / 05353955001)
5. LCS (Predilute) (n. di cat. 650-010 / 05264839001)
6. LCS (ULTRA Predilute) (n. di cat. 650-210 / 05424534001)
7. Attrezzatura di laboratorio per uso generico
8. Strumento BenchMark IHC/ISH
9. Montanti acquosi, adatti per fluorescenza
10. Coprioggetto
11. Microscopio per epifluorescenza (20-80X) dotato di un filtro FITC.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Alla ricezione e quando non è in uso, il prodotto va conservato a 2-8 °C. Non congelare.

Per garantire la corretta erogazione di reagente e la stabilità dell'anticorpo, dopo ogni utilizzo riposizionare il tappo dell'erogatore e riporre immediatamente l'erogatore in frigorifero in posizione verticale.

Su ogni erogatore di anticorpi è riportata la data di scadenza. Se conservato adeguatamente, il reagente resta stabile fino alla data indicata sull'etichetta. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza indicata.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I tessuti congelati e trattati normalmente sono idonei all'uso con questo anticorpo primario se usati con strumenti BenchMark IHC/ISH. La fissazione dei tessuti raccomandata è di 10 minuti in acetone freddo. Come risultato di una fissazione prolungata o di processi particolari, quali la decalcificazione di campioni di midollo osseo, si possono ottenere risultati variabili.

La conservazione di tessuti congelati a -80°C per periodi di tempo prolungati, fino a un massimo di 5 anni, preserva la qualità delle proteine.¹⁰

È necessario tagliare ogni sezione a uno spessore di circa 4 µm e montarla su un vetrino caricato positivamente.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico in vitro (IVD).
2. Solo per uso professionale.
3. **ATTENZIONE:** negli Stati Uniti le leggi federali consentono la vendita di questo dispositivo solo da parte di un medico o solo su prescrizione medica. (Rx Only).
4. Non usare oltre il numero di test specificato.
5. La soluzione ProClin 300 viene utilizzata come conservante nel reagente. È classificata come irritante e può causare sensibilizzazione tramite contatto cutaneo. Adottare precauzioni ragionevoli durante la manipolazione. Evitare il contatto del reagente con occhi, cute e membrane mucose. Indossare guanti e indumenti di protezione adeguati.
6. I vetrini caricati positivamente possono essere suscettibili a sollecitazioni ambientali con conseguente colorazione inadeguata. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo tipo di vetrini, contattare il rappresentante Roche.
7. I materiali di origine umana o animale devono essere maneggiati come materiali a rischio biologico e smaltiti adottando precauzioni appropriate. In caso di esposizione, attenersi alle direttive sanitarie delle autorità responsabili.^{11,12}
8. Evitare il contatto dei reagenti con gli occhi e le membrane mucose. Se i reagenti entrano in contatto con aree sensibili, lavare con acqua abbondante.
9. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché può causare risultati non corretti.
10. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo dispositivo, fare riferimento alla guida per l'utente dello strumento BenchMark IHC/ISH e alle istruzioni per l'uso di tutti i componenti necessari disponibili sul sito dialog.roche.com.

11. Consultare le autorità locali e/o statali in relazione al metodo di smaltimento consigliato.
12. Le etichette di sicurezza dei prodotti seguono principalmente le linee guida GHS dell'UE. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.
13. Per segnalare sospetti incidenti gravi correlati a questo dispositivo, contattare il rappresentante locale Roche e l'autorità competente dello Stato membro o del paese in cui risiede l'utilizzatore.

Questo prodotto contiene componenti classificati come segue in conformità con il regolamento (CE) n. 1272/2008:

Tabella 1. Informazioni sui pericoli.

Pericolo	Codice	Indicazione
	H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
	H412	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
	P261	Evitare di respirare la nebbia/i vapori.
	P273	Non disperdere nell'ambiente.
	P280	Indossare guanti.
	P333 + P313	In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.
	P362 + P364	Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
	P501	Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto autorizzato per lo smaltimento dei rifiuti.

Questo prodotto contiene il numero CAS 55965-84-9, massa di reazione di 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one in rapporto 3:1.

PROCEDURA DI COLORAZIONE

Gli anticorpi primari marcati con FITC VENTANA sono stati sviluppati per l'uso su strumenti BenchMark IHC/ISH in abbinamento agli accessori VENTANA. Fare riferimento alla seguente Tabella 2 per i protocolli di colorazione consigliati.

Questo anticorpo è stato ottimizzato per tempi di incubazione specifici; tuttavia, l'utilizzatore deve convalidare i risultati ottenuti con questo reagente.

È possibile visualizzare, stampare e modificare i parametri delle procedure automatizzate conformemente alla procedura descritta nella guida per l'utilizzatore dello strumento.

Per ulteriori informazioni dettagliate sull'uso corretto di questo dispositivo, fare riferimento alla scheda metodologica dell'erogatore in linea associata al codice 760-2683.

Tabella 2. Protocolli di colorazione consigliati per FITC Anti-Kappa Primary Antibody su strumenti BenchMark IHC/ISH.

Tipo di procedura	Metodo	
	XT	ULTRA o ULTRA PLUS ^a
Anticorpo fluorescente	Selezionato, 8 minuti	Selezionato, 8 minuti

^a La concordanza tra strumenti BenchMark ULTRA e BenchMark ULTRA PLUS è stata dimostrata utilizzando analisi rappresentative.

A causa della variabilità nella fissazione e processazione dei tessuti, così come della variabilità delle condizioni ambientali e degli strumenti di laboratorio, può essere necessario aumentare o diminuire il tempo di incubazione dell'anticorpo primario in base ai singoli campioni usati e alla preferenza del patologo. Per ulteriori informazioni sulle variabili di fissazione, fare riferimento a "Immunohistochemistry Principles and Advances".¹³

Al termine della corsa di colorazione, rimuovere i vetrini dallo strumento BenchMark IHC/ISH. Per il cromogeno FITC, non disidratare né chiarificare. Montare i vetrini colorati con anticorpo primario FITC con montante acquoso. Un'eliminazione efficiente di Liquid

Coverslip Solution dai vetrini dopo la rimozione dallo strumento, riduce notevolmente l'autofluorescenza di fondo. A tal fine, risciacquare abbondantemente i vetrini in Reaction Buffer. I vetrini possono quindi essere risciacquati in acqua distillata e montati con i montavetrini. Le sezioni colorate devono essere sottoposte a lettura lo stesso giorno in cui è effettuata la colorazione e devono essere conservate al buio in un ambiente freddo (-20° C o -80° C). I vetrini colorati con gli anticorpi primari FITC possono subire un fenomeno di quenching nel corso del tempo o come conseguenza dell'esposizione prolungata alla luce. Evitare l'esposizione alla luce.

TESSUTO DI CONTROLLO POSITIVO

Un tessuto di controllo deve essere incluso in ogni corsa di colorazione. La pratica di laboratorio ottimale consiste nell'includere una sezione di tessuto di controllo positivo sullo stesso vetrino del tessuto di test. Ciò contribuisce all'identificazione di eventuali errori di applicazione dei reagenti al vetrino. Il tessuto con una colorazione positiva debole è il più adatto per il controllo qualità. Il tessuto di controllo può contenere elementi con colorazione positiva e negativa e fungere da controllo sia positivo che negativo. Il tessuto di controllo deve provenire da un campione autoptico, bioptico o chirurgico recente preparato o fissato il prima possibile in modo identico alle sezioni da testare.

I tessuti di controllo positivi noti devono essere utilizzati solo per il monitoraggio delle prestazioni di reagenti e strumenti, non come ausilio nella determinazione della diagnosi specifica dei campioni del test. Se i tessuti di controllo positivi non mostrano colorazione positiva, i risultati dei campioni del test devono essere considerati non validi.

Esempi di tessuti di controllo positivo per l'anticorpo FITC Anti-Kappa sono tonsille o linfonodo congelati.

INTERPRETAZIONE DELLA COLORAZIONE / RISULTATI PREVISTI

La procedura di immunocolorazione automatizzata Ventana rende possibile la visualizzazione dell'antigene bersaglio mediante l'anticorpo primario marcato e il fluorocromo collegato. La colorazione non specifica, se presente, apparirà di colore dal giallo vivo al verdastro. È possibile osservare anche una colorazione sporadica del tessuto connettivo in sezioni provenienti da tessuti fissati in maniera eccessiva. In campioni di tessuto colorato può essere presente autofluorescenza.

Un patologo qualificato con esperienza nelle procedure di immunofluorescenza dovrà valutare i controlli positivi e negativi prima di interpretare i risultati.

LIMITAZIONI SPECIFICHE

Non tutte le analisi potrebbero essere registrate su ogni strumento. Per ulteriori informazioni, contattare il rappresentante locale Roche.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

PRESTAZIONI ANALITICHE

Sono stati condotti test di colorazione per la sensibilità, la specificità e la precisione; i relativi risultati sono elencati di seguito.

Sensibilità e specificità

Le seguenti tabelle indicano la reattività del prodotto su vari tessuti congelati normali e neoplastici, nonché su tessuti renali patologici (lupus renale). Nel tessuto renale, uno stato Kappa positivo rappresenta un'evidenza che suggerisce, ma non conferma, la presenza di depositi di IC.

Tabella 3. La sensibilità/specificità di FITC Anti-Kappa Primary Antibody è stata determinata testando tessuti congelati normali e affetti dalle patologie di indicazione.

Tessuto	N. casi positivi/totali	Tessuto	N. casi positivi/totali
Cervello	0/4	Timo	3/3
Cervelletto	0/3	Mieloidi (midollo osseo)	0/3
Ghiandola surrenale	0/3	Polmone	0/4
Ovaio	0/4	Cuore	0/3
Pancreas	1/4	Esofago	3/3
Placenta	0/3	Stomaco	3/4
Ghiandola pituitaria	0/3	Intestino tenue	0/1

Tessuto	N. casi positivi/totali	Tessuto	N. casi positivi/totali
Testicolo	0/3	Colon	3/4
Tiroide	0/3	Fegato	0/4
Mammella	0/4	Uretere	0/3
Milza	0/3	Rene	0/4
Tonsille	1/1	Rene (Lupus)	5/5
Utero	0/4	Prostata	0/4
Muscolo striato	0/3	Cervice	0/3
Muscolo	0/1	Cute	0/4
Midollo spinale	0/3	Linfonodi	3/3
Vaso sanguigno (arteria)	0/3	Tuba di Falloppio	0/3

Tabella 4. La sensibilità/specificità di FITC Anti-Kappa Primary Antibody è stata determinata testando una gamma di tessuti neoplastici congelati.

Patologia	N. casi positivi/totali
Glioblastoma (cervello)	0/1
Adenocarcinoma (ovaio)	1/1
Adenocarcinoma (pancreas)	0/1
Carcinoma duttale invasivo (mammella)	0/1
Adenocarcinoma (polmone)	0/1
Adenocarcinoma (stomaco)	1/1
Linfoma non Hodgkin (intestino tenue)	0/1
Adenocarcinoma (colo-rettale)	0/1
Adenocarcinoma (fegato)	1/1
Carcinoma a cellule chiare (rene)	0/1
Adenocarcinoma (prostata)	0/1
Adenocarcinoma (utero)	0/1
Melanoma (cute)	0/1
Leiomiomasarcoma (muscolatura liscia)	0/1

Precisione

Gli studi sulla precisione di FITC Anti-Kappa Primary Antibody sono stati condotti al fine di determinare quanto segue:

- Precisione tra lotti dell'anticorpo.
- Precisione intra-corsa di colorazione e tra giorni diversi su uno strumento BenchMark ULTRA.
- Precisione tra strumenti sugli strumenti BenchMark XT e BenchMark ULTRA.
- Precisione tra piattaforme tra gli strumenti BenchMark XT e BenchMark ULTRA.

Tutti gli studi hanno soddisfatto i rispettivi criteri di accettabilità.

La precisione sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS è stata dimostrata usando analisi rappresentative. Gli studi hanno incluso ripetibilità intra-corsa di colorazione, precisione

intermedia tra giorni diversi e tra corse di colorazione. Tutti gli studi hanno soddisfatto i rispettivi criteri di accettabilità.

BIBLIOGRAFIA

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. Glasscock 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
12. 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.
13. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

NOTA: nel presente documento si utilizza sempre un punto come separatore decimale per separare la parte intera di un numero decimale da quella frazionaria. I separatori per le migliaia non sono utilizzati.

Simboli

Ventana usa i seguenti simboli e segni in aggiunta a quelli elencati nello standard ISO 15223-1 (per gli Stati Uniti: visitare il sito dialog.roche.com per le definizioni dei simboli utilizzati):



Global Trade Item Number (numero prodotto globale)



Identificazione unica del dispositivo



Indica l'entità che importa il dispositivo medico nell'Unione europea

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Rev	Aggiornamenti
C	Aggiornamenti alle sezioni: Uso previsto, Sommario e spiegazione, Principio della procedura, Materiali forniti, Materiali necessari ma non forniti, Conservazione e stabilità, Preparazione dei campioni, Avvertenze e precauzioni, Procedura di colorazione, Tessuto di controllo positivo, Interpretazione della colorazione/risultati previsti, Limitazioni specifiche, Prestazioni analitiche, Bibliografia, Simboli, Proprietà intellettuale e Informazioni di contatto. Aggiunta dello strumento BenchMark ULTRA PLUS.

PROPRIETÀ INTELLETTUALE

VENTANA, BENCHMARK e il logo VENTANA sono marchi commerciali di Roche. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi titolari.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMAZIONI DI CONTATTO

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



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

