INMUNOTECH

DESTINATARIO

E.S.E. HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER
CALLE 31 # 31 - 50 PISO 3, OFICINA DE GERENCIA – BUCARAMANGA, SANTANDER.

PROPUESTA PARA OFERTAR - SUMINISTRO DE ANTICUERPOS PARA LA REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA DE LA ESE HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER GRUPO A.

REMITENTE

INMUNOTECH LABORATORIES SAS
NIT. 830.141.394-2
CARRERA 9 No. 48 – 40 PISO 5, BOGOTÁ D.C.
TEL: 60 (1) 457 23 77 - 3102663703

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER
EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO
NIT. 900.006.037-4
OFICINA JURÍDICA
FECHA: 6/Sep/2024 HORA: 3:50 pm
RECIBE:

INMUNOTECH

Bogotá D.C., Julio 05 de 2024

FOLIOS

INDICE GENERAL.....2

- 8. Oferta Económica.....4
  - Oferta económica Anexo No. 2.....5
- 10. Requisitos habilitantes y de participación.....8
- 10.1 Requisitos de orden jurídico.....9
  - 10.1.1 Carta de presentación de la oferta Anexo No. 1.....10
  - 10.1.2 Certificado de existencia y representación legal.....13
  - 10.1.3 Paz y salvo con el sistema de seguridad social integral y de aportes parafiscales.....22
  - 10.1.4 Certificado de antecedentes disciplinarios.....29
  - 10.1.5 Certificado de antecedentes fiscales.....31
  - 10.1.6 Certificado de antecedentes judiciales.....33
  - 10.1.7 Certificado de medidas correctivas.....34
  - 101.8 Copia de la cedula de ciudadanía representante legal.....35
  - 10.1.9 Copia del RUT.....33
  - 10.1.11 Compromiso Anticorrupción Anexo No. 3.....41
  - 10.1.12 Certificado de Inhabilidades e Incompatibilidades Anexo No. 4.44
  - 10.1.13 Certificado que acredite no estar reportado en el sistema de administración del riesgo de lavado de activos y de la financiación del terrorismo – SARLAFT.....46
  - 10.1.14 Certificado de inhabilidades por delitos sexuales contra menores de 18 años.....49
  - 10.1.15 Paz y salvo por deudas por obligaciones alimentarias.....50
- 10.2. Requisitos habilitantes de orden financiero.....51
  - Registro Único de Proponentes.....52
  - Estados financieros año 2023.....66
- 11. Requisito habilitante de orden técnico.....86
  - Certificado Registro Invima.....87
  - Fichas Técnicas.....90

INMUNOTECH

- Hojas de seguridad.....390
- Certificado de fecha de vencimiento.....459
- Política de devolución.....461
- Concepto Tecnico Sanitario.....468

- 12. Requisitos habilitantes de experiencia.....478
- Contratos celebrados.....479

Atentamente.

INMUNOTECH
LABORATORIES S.A.S
NIT: 830.141.394-2

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
C.C. 1.032.377.536 de Bogotá D.C.
RL Y GERENTE GENERAL
INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.
TEL: 457 23 77 – 311 208 1996

INMUNOTECH

9. OFERTA ECONÓMICA

INMUNOTECH

ANEXO No. 02
PROPUESTA ECONÓMICA

OBJETO: "SUMINISTRO DE ANTICUERPOS PARA LA REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA DE LA ESE HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER GRUPO A"

PLAZO: será a partir del INICIO DE LA EJECUCIÓN DEL CONTRATO Y PREVIO CUMPLIMIENTO DE LOS REQUISITOS DE EJECUCIÓN Y PERFECCIONAMIENTO, HASTA EL 15 DE DICIEMBRE DE 2024.

ITEM	PRESENTACIÓN	DESCRIPCIÓN	DILUSIÓN / CLON	VALOR UNITARIO	IVA	VALOR UNITARIO IVA INCLUIDO
1	1 ML	BCL-2	1:100-1:500 (124)	2.184.973	-	2.184.973
2	0.5 ML	BCL-6	1:100-1:500 (GI191E/A8)	3.091.678	-	3.091.678
3	0.5 ML	Ep-CAM/Epithelial Specific Antigen	1:50-1:200 (BER-EP4)	2.232.960	-	2.232.960
4	0.5 ML	Cytokeratin CAM 5.2	1:25-1:100 (CAM 5.2)	1.790.151	-	1.790.151
5	1 ML	Cytokeratin AE1 & AE3	1:100-1:500 (AE1 & AE3)	2.169.158	-	2.169.158
6	1 ML	CD10	1:10-1:50 (56C6)	5.645.383	-	5.645.383
7	1 ML	CD117, c-kit	1:100-1:500 (YR145)	3.887.680	-	3.887.680
8	1 ML	CD138	1:100-1:500 (EP201)	3.787.521	-	3.787.521
9	0.5 ML	CD15	1:25-1:100 (MMA)	2.143.344	-	2.143.344
10	0.5 ML	CD23	1:10-1:50 (1B12)	3.819.693	-	3.819.693
11	1 ML	CD3	1:100-1:500 (MQR-39)	3.560.302	-	3.560.302
12	1 ML	CD30	1:50-1:200 (BER-H2)	1.713.250	-	1.713.250
13	1 ML	CD34	1:50-1:200 (QBEnd/10)	3.520.944	-	3.520.944
14	1 ML	CD5	1:100-1:500 (SP19)	7.935.491	-	7.935.491
15	1 ML	CD56	1:100-1:500 (MRQ-42)	2.627.239	-	2.627.239
16	0.5 ML	CD68	1:100-1:500 (KP-1)	1.460.560	-	1.460.560
17	1 ML	CD79a	1:100-1:500 (JCB117)	3.725.348	-	3.725.348
18	0.5 ML	CD99	1:100-1:500 (EPR3097Y)	2.280.404	-	2.280.404
19	0.5 ML	CDX2	1:100-1:500 (EPR2764Y)	2.770.657	-	2.770.657
20	1 ML	Cyclin D1	1:100-1:500 (SP4)	7.243.133	-	7.243.133

INMUNOTECH

ITEM	PRESENTACIÓN	DESCRIPCIÓN	DILUSIÓN / CLON	VALOR UNITARIO	IVA	VALOR UNITARIO IVA INCLUIDO
21	1 ML	CK20	1:200-1:500 (KS20.8)	4.894.544	-	4.894.544
22	1 ML	CK7	1:100-1:500 (OV-TL 12/30)	2.381.106	-	2.381.106
23	1 ML	Chromogranin A	1:100-1:500 (LK2H10)	1.731.621	-	1.731.621
24	0.5 ML	Cytokeratin (34betaE12)	1:100-1:500 (34BETAE12)	1.874.495	-	1.874.495
25	0.5 ML	Desmin	1:100-1:500 (EP15)	2.358.934	-	2.358.934
26	1 ML	EMA	1:100-1:500 (E29)	1.730.895	-	1.730.895
27	7 ML	GATA 3	L50-823 - (70 TEST)	2.007.839	-	2.007.839
28	1 ML	Ki-67	1:100-1:500 (SP6)	6.009.554	-	6.009.554
29	100 ML Concentrado	KIT DE DETECCION COMPLETO (AMPLIFICADOR-POLIMERO-DIAMINOBENCIDINA)	1000 TEST	9.837.751	-	9.837.751
30	CAJA X 100 UND	LAMINAS CON ADHESIÓN ESPECIAL TOMO	-	129.790	24.660	154.450
31	0.5 ML	MART-1 (Melan A)	1:100-1:500 (A103)	1.473.858	-	1.473.858
32	1 ML	MUM1	1:100-1:500 (EP190)	4.153.972	-	4.153.972
33	1 ML	p53	1:100-1:500 (D07)	3.160.751	-	3.160.751
34	0.5 ML	PAX 8	1:50 -1:200 (MRQ-50)	4.191.430	-	4.191.430
35	1 ML	Estrogen Receptor	1:100-1:500 (SP1)	12.862.554	-	12.862.554
36	1 ML	Progesterone Receptor	1:100-1:500 (SP42)	10.648.508	-	10.648.508
37	0.5 ML	Synaptophysin	1:100-1:500 (MRQ-40)	1.991.861	-	1.991.861
38	0.5 ML	SOX-10	1:50 -1:200 (EP268)	3.068.035	-	3.068.035
39	1 ML	TTF-1	1:100-1:500 (8G7G3/1)	1.730.895	-	1.730.895
40	1 LT	TBS IHC Wash Buffer + Tween, 20X 1 liter	1LT:950 AGUA DESTILADA - 50 WASH BUFFER	924.600	-	924.600
41	500 ML	EPITOPE SOLUTION RETRIEVAL PH6	CONCENTRADO	536.500	-	536.500
42	500 ML	EPITOPE SOLUTION RETRIEVAL PH9	CONCENTRADO	989.647	-	989.647
43	0.5 LT	DAB Kit 30ml DAB/500ml Buffer	CONCENTRADO	3.252.420	-	3.252.420
44	1 UN	PAP PEN (MARCADOR HIDROFOBICO)	1 UND	795.430	-	795.430
45	1 ML	P40	1:100 1:200 (ZR8)	4.045.608	-	4.045.608
46	1 ML	P63	1:100 – 1:200 (4A4)	3.199.392	-	3.199.392
47	1 ML	Her2/Neu	1:100 – 1:500 (SP3)	10.332.215	-	10.332.215
48	1 ML	CD71	1:50 – 1:100 (ZM52)	2.231.460	-	2.231.460

INMUNOTECH

8.

10. REQUISITOS HABILITANTES Y DE PARTICIPACIÓN

INMUNOTECH

10.1. REQUISITOS DE ORDEN JURÍDICO

INMUNOTECH

ANEXO No. 1

CARTA DE PRESENTACIÓN DE LA OFERTA

Bogotá D.C., Julio 05 de 2024

Señores,
Hospital Universitario de Santander Gerencia
E. S. D.

Asunto: Invitación a presentar propuesta. OBJETO: **"SUMINISTRO DE ANTICUERPOS PARA LA REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA DE LA ESE HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER GRUPO A"**

Señor Gerente:

El suscrito, Sandra Milena Giraldo Cano mayor de edad, domiciliado en Bogotá D.C., con Cédula de Ciudadanía Nº. 1.032.377.536 expedida en Bogotá D.C., en mi condición de Representante Legal de la firma **INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.** y en atención al proceso de la referencia, presento propuesta para que sea evaluada por la entidad.

Así mismo declaro que:

Conozco las condiciones de la invitación, todos los requisitos en ellos establecidos y todos los documentos relacionados con el proceso, los cuales acepto en todas y cada una de sus partes.

En caso de resultar favorecido con la adjudicación, me comprometo a suscribir el correspondiente contrato y a otorgar las garantías exigidas dentro de los plazos, por los valores y por las vigencias establecidas en los documentos del proceso de selección.

Manifiesto que no existe respecto del proponente, de sus asociados, o de su Representante Legal, incapacidades o causales de inhabilidad o de incompatibilidad alguna que de acuerdo con las normas vigentes pudiera impedir o viciar la presentación de nuestra oferta, o la firma del contrato que pudiera resultar de la eventual adjudicación. Esta afirmación la hago bajo la gravedad del juramento.

INMUNOTECH

Ninguna persona natural o jurídica diferente del proponente tiene interés en la propuesta que ahora presento, ni en el contrato que como consecuencia de su evaluación y eventual adjudicación pudiera llegar a celebrarse y que en consecuencia sólo compromete y obliga a los firmantes.

A la fecha he recibido las siguientes multas y sanciones mediante acto administrativo expedido y debidamente ejecutoriado durante los últimos 2 años, contados a partir del cierre del presente proceso de contratación (Relacionar las multas y sanciones que le han sido impuestas)

En caso de resultar favorecido con la adjudicación, me obligo a efectuar el contrato dentro del término establecido para el efecto en el pliego de condiciones, una vez perfeccionado, a cumplir el programa de entrega contenido en la propuesta presentada y a dar cumplimiento total de las obligaciones contraídas como consecuencia de la firma del contrato.

En caso de resultar favorecido con la adjudicación, me obligo a prestar el servicio y recurso humano requerido a los precios unitarios incluídos en la propuesta, sin que tales precios sufran modificación alguna por cambios en las cantidades de personal o equipos necesarios y solicitados por la entidad contratante.

En caso de resultar favorecido con la adjudicación me obligo a aceptar la supervisión técnica y administrativa en cabeza del Hospital Universitario de Santander o de quien éste determine.

La propuesta que ahora someto a su consideración tiene una validez de ocho (8) meses contados desde la fecha de cierre del presente proceso de contratación directa. No obstante, si la eventual adjudicación se me comunicare con posterioridad a esa fecha y yo aceptare suscribir el contrato, éste hecho será interpretado como prórroga del término de la validez de la propuesta. Conozco todos los gravámenes legales que afectan el eventual contrato que me fuere adjudicado.

AUTORIZACIÓNPARANOTIFICACIÓNVÍAELECTRÓNICA: De conformidad con lo dispuesto en el artículo 56 del CPACA (Ley1437-2011) se autoriza a la ESEHUS para realizar la notificación de actos administrativos vía electrónica: Para el efecto autorizamos las notificaciones en el siguiente correo electrónico: administracion@inmunotechlab.com

INMUNOTECH

Para todos los efectos informo a ustedes que la dirección a la cual nos pueden enviar correspondencia relacionada con el presente proceso de contratación, es la siguiente:

NOMBRE DEL PROPONENTE: INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.
NIT. o CC. 830.141.394-2
NOMBRE REPRESENTANTELEGAL: SANDRA MILENA GIRALDO CANO
C.C. 1.032.377.536
DIRECCION: Cra. 9 No. 48 - 40 PISO 5
TELEFONO Y FAX: 60 (1) 457 23 77
CIUDAD: BOGOTÁ D.C.

Atentamente,

INMUNOTECH
LABORATORIES S.A.S
NIT: 830.141.394-2

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
RL Y GERENTE GENERAL
INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.
TEL: 457 23 77 - 311 208 1996

Cámara de Comercio de Bogotá

Sede Virtual

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de julio de 2024 Hora: 14:16:19
Recibo No. AB24107545
Valor: $ 7,900

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN B241075457D127

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

CON FUNDAMENTO EN LA MATRÍCULA E INSCRIPCIONES EFECTUADAS EN EL REGISTRO MERCANTIL, LA CÁMARA DE COMERCIO CERTIFICA:

NOMBRE, IDENTIFICACIÓN Y DOMICILIO

Razón social: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
Nit: 830.141.394-2 Administración : Direccion Seccional De Impuestos De Bogota, Regimen Comun
Domicilio principal: Bogotá D.C.

MATRÍCULA

Matrícula No. 01380225
Fecha de matrícula: 27 de mayo de 2004
Último año renovado: 2024
Fecha de renovación: 22 de marzo de 2024
Grupo NIIF: Grupo III.

UBICACIÓN

Dirección del domicilio principal: Cra 9 No. 48 40 P5
Municipio: Bogotá D.C.
Correo electrónico: mauriciodiazmondragon@outlook.com
Teléfono comercial 1: 2327310
Teléfono comercial 2: 2852444
Teléfono comercial 3: No reportó.

Dirección para notificación judicial: Cra 9 No. 48 40 P 5
Municipio: Bogotá D.C.
Correo electrónico de notificación: mauriciodiazmondragon@outlook.com
Teléfono para notificación 1: 2327310
Teléfono para notificación 2: 3112081996
Teléfono para notificación 3: No reportó.

La persona jurídica NO autorizó para recibir notificaciones personales a través de correo electrónico, de conformidad con lo establecido en los artículos 291 del Código General del Procesos y 67 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo.

Constanza del Pilar Puentes Trujillo

Cámara de Comercio de Bogotá

Sede Virtual

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de julio de 2024 Hora: 14:16:19
Recibo No. AB24107545
Valor: $ 7,900

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN B241075457D127

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

CONSTITUCIÓN

Por Escritura Pública No. 0002481 del 19 de mayo de 2004 de Notaría 13 de Bogotá D.C., inscrito en esta Cámara de Comercio el 27 de mayo de 2004, con el No. 00936268 del Libro IX, se constituyó la sociedad de naturaleza Comercial denominada INMUNOTECH LABORATORIES LTDA.

REFORMAS ESPECIALES

Por Acta No. 11 de Junta de Socios del 19 de septiembre de 2011, inscrita el 29 de noviembre de 2011 bajo el Número 01531315 del Libro IX, la sociedad de la referencia se transformó de Sociedad Limitada a Sociedad por Acciones Simplificada bajo el nombre de: INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.

Por Acta No. 11 del 19 de septiembre de 2011 de Junta de Socios, inscrito en esta Cámara de Comercio el 29 de noviembre de 2011, con el No. 01531315 del Libro IX, la sociedad cambió su denominación o razón social de INMUNOTECH LABORATORIES LTDA a INMUNOTECH LABORATORIES S A S.

TÉRMINO DE DURACIÓN

La persona jurídica no se encuentra disuelta y su duración es indefinida.

OBJETO SOCIAL

La sociedad tendrá como objeto social principal las siguientes actividades: Prestar servicios y asesoría completa de patología quirúrgica, citopatología, inmunopatología, ayudas o complementos de diagnóstico en la práctica de la medicina. Salud ocupacional: Adelantar labores de promoción de salud para la información, formación, educación, capacitación y entrenamiento en todas las áreas, celebrar los contratos necesarios para el desarrollo de estas actividades; podrá participar en programas de investigación

científica en el área de la salud, subcontratar con personas naturales o jurídicas especializadas en el área de la ejecución total o parcial de los mismos, obtener derechos de propiedad sobre marcas, dibujos, insignias, logotipos, patentes de invención, derechos de autor, obtener registros de marcas, patentes y privilegios, cederlos a cualquier título, promover y formar empresas de la misma índole, o de negocios relacionados con su objeto social y aportar a ellas toda clase de bienes. El comercio al por mayor de artículos e insumos para laboratorio (medios de contraste, pruebas para diagnóstico de laboratorio, medios de cultivo, biolatrines y reactivos químicos para laboratorio. Podrá tener participación o acciones en empresas de la misma índole o con fines que se relacionen directamente con su objeto principal. Ejercer la representación o agencia de personas naturales o jurídicas dedicadas a las mismas actividades o aquellas que se relacionen con su objeto social: y, en general, hacerlo en cualquier parte, sea en su propio nombre o por cuenta de terceros, o en participación con ellos. En desarrollo de su objeto social. La sociedad podrá: A.- Comprar. Vender, importar y exportar toda suerte de artículos, productos, subproductos e insumos relacionados directamente con el objeto social, B.- Adquirir a cualquier título toda clase de bienes corporales o incorporales, muebles e inmuebles, privilegios y patentes enajenar aquellos que por cualquier causa deje de necesitar o no le convenga; hacer construcciones y montajes que sean necesarios y convenientes al desarrollo de los negocios de la sociedad. C.-Celebrar toda clase de contratos para obtener la ayuda técnica necesaria para el mejor desarrollo de sus negocios. D.- Establecer agencias, sucursales o filiales técnicas o comerciales en cualquier ciudad del país o del exterior. E.- Aceptar representaciones nacionales y extranjeras de productos del mismo ramo y de ramos similares o complementarios. F. - Suscribir acciones e interesarse en cualquier otra forma de empresas o negocios que den por resultado abrirle mercado a los productos que produzca y facilitarle su operación. G.- Tomar o dar dinero en préstamo, hipotecar o gravar sus bienes inmuebles y muebles, celebrar contratos de apertura de créditos, girar, endosar, adquirir, aceptar, cobrar, prestar, cancelar o pagar cualquier clase de títulos valores o cualesquiera otros efectos de comercio o aceptarlos en pago, siempre que esté relacionados con las operaciones que forman el objeto social. H.-Representar bajo forma exclusiva o no, casas o firmas nacionales y extranjeras. I.- En general, la sociedad podrá realizar cualquier actividad comercial o civil, lícita. Parágrafo: prohibiese a la sociedad constituirse en garante de obligaciones de terceros, de

sus accionistas y prestar caución con los bienes sociales, para obligaciones distintas de aquellas propias de la sociedad.

CAPITAL

* CAPITAL AUTORIZADO *

Valor	: $100.000.000,00
No. de acciones	: 100,00
Valor nominal	: $1.000.000,00

* CAPITAL SUSCRITO *

Valor	: $100.000.000,00
No. de acciones	: 100,00
Valor nominal	: $1.000.000,00

* CAPITAL PAGADO *

Valor	: $100.000.000,00
No. de acciones	: 100,00
Valor nominal	: $1.000.000,00

REPRESENTACIÓN LEGAL

La Sociedad tendrá un Gerente, quien ejercerá la Representación Legal de la sociedad, el cual será elegido por la Asamblea General de Accionistas para períodos de un (1) año. Igualmente tendrá un suplente quien será el Subgerente, con las mismas facultades del Gerente, sin perjuicio de que la Asamblea General de Accionistas, pueda removerlos libremente en cualquier momento.

FACULTADES Y LIMITACIONES DEL REPRESENTANTE LEGAL

La Representación Legal de la Sociedad por Acciones Simplificada estará a cargo de un Gerente, persona natural o jurídica, accionista o no, quien tendrá su respectivo suplente el cual tendrá las mismas funciones y facultades del Gerente, designados por la Asamblea General de Accionistas. Las funciones del Gerente terminarán en caso

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de julio de 2024 Hora: 14:16:19
Recibo No. AB24107545
Valor: $ 7,900

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN B241075457D127

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Gerente	Sandra Milena Giraldo Cano	C.C. No. 1032377536

Por Acta No. 23 del 18 de noviembre de 2019, de Asamblea de Accionistas, inscrita en esta Cámara de Comercio el 26 de diciembre de 2019 con el No. 02536938 del Libro IX, se designó a:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Representante Legal Suplente (Subgerente).	Mauricio Eduardo Diaz Mondragon	C.C. No. 79780258

REVISORES FISCALES

Por Acta No. 31 del 21 de noviembre de 2023, de Asamblea de Accionistas, inscrita en esta Cámara de Comercio el 22 de noviembre de 2023 con el No. 03037790 del Libro IX, se designó a:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Revisor Fiscal	Claudia Patricia Villaveces Murillo	C.C. No. 39722047 T.P. No. 61916-T

REFORMAS DE ESTATUTOS

Los estatutos de la sociedad han sido reformados así:

DOCUMENTO	INSCRIPCIÓN
E. P. No. 0001333 del 21 de abril de 2007 de la Notaría 26 de Bogotá D.C.	01126351 del 25 de abril de 2007 del Libro IX
E. P. No. 32 del 8 de enero de 2009 de la Notaría 11 de Bogotá D.C.	01291493 del 22 de abril de 2009 del Libro IX
E. P. No. 32 del 8 de enero de 2009 de la Notaría 11 de Bogotá D.C.	01291495 del 22 de abril de 2009 del Libro IX

E. P. No. 32 del 8 de enero de 2009 de la Notaría 11 de Bogotá D.C.	01296117 del 11 de mayo de 2009 del Libro IX
Acta No. 11 del 19 de septiembre de 2011 de la Junta de Socios	01531315 del 29 de noviembre de 2011 del Libro IX
Acta No. 20 del 26 de julio de 2018 de la Asamblea de Accionistas	02362641 del 1 de agosto de 2018 del Libro IX
Acta No. 26 del 20 de abril de 2022 de la Asamblea de Accionistas	02833908 del 29 de abril de 2022 del Libro IX

RECURSOS CONTRA LOS ACTOS DE INSCRIPCIÓN

De conformidad con lo establecido en el Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo y la Ley 962 de 2005, los actos administrativos de registro, quedan en firme dentro de los diez (10) días hábiles siguientes a la fecha de inscripción, siempre que no sean objeto de recursos. Para estos efectos, se informa que para la Cámara de Comercio de Bogotá, los sábados NO son días hábiles.

Una vez interpuestos los recursos, los actos administrativos recurridos quedan en efecto suspensivo, hasta tanto los mismos sean resueltos, conforme lo prevé el artículo 79 del Código de Procedimiento Administrativo y de los Contencioso Administrativo.

A la fecha y hora de expedición de este certificado, NO se encuentra en curso ningún recurso.

CLASIFICACIÓN DE ACTIVIDADES ECONÓMICAS - CIIU

Actividad principal Código CIIU: 8691
Actividad secundaria Código CIIU: 4645

ESTABLECIMIENTO(S) DE COMERCIO

A nombre de la persona jurídica figura(n) matriculado(s)en esta Cámara de Comercio de Bogotá el(los) siguiente(s) establecimiento(s) de comercio:

Cámara de Comercio de Bogotá

Sede Virtual

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de julio de 2024 Hora: 14:16:19
Recibo No. AB24107545
Valor: $ 7,900

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN B241075457D127

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

Nombre:	LAB STUDIO
Matrícula No.:	03683221
Fecha de matrícula:	23 de mayo de 2023
Último año renovado:	2024
Categoría:	Establecimiento de comercio
Dirección:	Carrera 9 48 40
Municipio:	Bogotá D.C.

SI DESEA OBTENER INFORMACIÓN DETALLA DE LOS ANTERIORES ESTABLECIMIENTOS DE COMERCIO O DE AQUELLOS MATRICULADOS EN UNA JURISDICCIÓN DIFERENTE A LA DEL PROPIETARIO, DEBERÁ SOLICITAR EL CERTIFICADO DE MATRÍCULA MERCANTIL DEL RESPECTIVO ESTABLECIMIENTO DE COMERCIO.

LA INFORMACIÓN CORRESPONDIENTE A LOS ESTABLECIMIENTOS DE COMERCIO, AGENCIAS Y SUCURSALES, QUE LA PERSONA JURÍDICA TIENE MATRICULADOS EN OTRAS CÁMARAS DE COMERCIO DEL PAÍS, PODRÁ CONSULTARLA EN WWW.RUES.ORG.CO.

TAMAÑO EMPRESARIAL

De conformidad con lo previsto en el artículo 2.2.1.13.2.1 del Decreto 1074 de 2015 y la Resolución 2225 de 2019 del DANE el tamaño de la empresa es Pequeña

Lo anterior de acuerdo a la información reportada por el matriculado o inscrito en el formulario RUES:

Ingresos por actividad ordinaria $ 5.011.865.501
Actividad económica por la que percibió mayores ingresos en el período - CIIU : 8691

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Que, los datos del empresario y/o el establecimiento de comercio han sido puestos a disposición de la Policía Nacional a través de la consulta a la base de datos del RUES.

Los siguientes datos sobre RIT y Planeación son informativos:

Cámara de Comercio de Bogotá

Sede Virtual

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de julio de 2024 Hora: 14:16:19
Recibo No. AB24107545
Valor: $ 7,900

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN B241075457D127

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

Contribuyente inscrito en el registro RIT de la Dirección de Impuestos, fecha de inscripción : 27 de mayo de 2004. Fecha de envío de información a Planeación : 23 de marzo de 2024. \n \n Señor empresario, si su empresa tiene activos inferiores a 30.000 SMLMV y una planta de personal de menos de 200 trabajadores, usted tiene derecho a recibir un descuento en el pago de los parafiscales de 75% en el primer año de constitución de su empresa, de 50% en el segundo año y de 25% en el tercer año. Ley 590 de 2000 y Decreto 525 de 2009. Recuerde ingresar a www.supersociedades.gov.co para verificar si su empresa está obligada a remitir estados financieros. Evite sanciones.

El presente certificado no constituye permiso de funcionamiento en ningún caso.

****

Este certificado refleja la situación jurídica registral de la sociedad, a la fecha y hora de su expedición.

****

Este certificado fue generado electrónicamente con firma digital y cuenta con plena validez jurídica conforme a la Ley 527 de 1999.

****

Firma mecánica de conformidad con el Decreto 2150 de 1995 y la autorización impartida por la Superintendencia de Industria y Comercio, mediante el oficio del 18 de noviembre de 1996.

CONSTANZA PUENTES TRUJILLO



REPUBLICA DE COLOMBIA
IDENTIFICACION PERSONAL
CEDULA DE CIUDADANIA

NUMERO 1.032.377.536

GIRALDO CANO

APELLIDOS

SANDRA MILENA

NOMBRES

FIRMA



FECHA DE NACIMIENTO 05-OCT-1986

BOGOTA D.C
(CUNDINAMARCA)
LUGAR DE NACIMIENTO

1.61 ESTATURA | O+ G.S. RH | F SEXO

05-ENE-2005 BOGOTA D.C.
FECHA Y LUGAR DE EXPEDICION

REGISTRADOR NACIONAL
CARLOS ARIEL SÁNCHEZ TORRES

INDICE DERECHO

A-1500150-00742136-F-1032377536-20150828 0046089608A 1 1263241316

DIAN

Formulario del Registro Único Tributario

001

2. Concepto 0 2 Actualización

4. Número de formulario 14964806363

(415)7707212489984(8020) 000001496480636 3

5. Número de Identificación Tributaria (NIT)	6. DV	12. Dirección seccional	14. Buzón electrónico
8 3 0 1 4 1 3 9 4	2	Impuestos de Bogotá	3 2

IDENTIFICACIÓN

24. Tipo de contribuyente	25. Tipo de documento	26. Número de identificación	27. Fecha expedición
Persona jurídica 1			

Lugar de expedición	28. País	29. Departamento	30. Ciudad/Municipio

31. Primer apellido	32. Segundo apellido	33. Primer nombre	34. Otros nombres

35. Razón social
INMUNOTECH LABORATORIES S A S

36. Nombre comercial	37. Sigla

UBICACIÓN

38. País	39. Departamento	40. Ciudad/Municipio
COLOMBIA 1 6 9	Bogotá D.C. 1 1	Bogotá, D.C. 0 0 1

41. Dirección principal
CR 9 48 40 P 5

42. Correo electrónico mauriciodiazmondragon@outlook.com

43. Código postal	44. Teléfono 1	45. Teléfono 2
	6 0 1 4 5 7 2 3 7 7	6 0 1 9 1 5 6 5 9 7

CLASIFICACIÓN

Actividad económica

Actividad principal		Actividad secundaria		Otras actividades			Ocupación	
46. Código	47. Fecha inicio actividad	48. Código	49. Fecha inicio actividad	50. Código	1	2	51. Código	52. Número establecimientos
8 6 9 1	2 0 0 4 0 5 1 9	4 6 4 5	2 0 2 2 0 4 2 9					0

Responsabilidades, Calidades y Atributos

53. Código 5 7 9 1 0 1 4 4 2 4 8 5 2 5 5

05- Impto. renta y compl. régimen ordinar
07- Retención en la fuente a título de rent
09- Retención en la fuente en el impuesto
10- Obligado aduanero
14- Informante de exogena
42- Obligado a llevar contabilidad
48 - Impuesto sobre las ventas - IVA
52 - Facturador electrónico
55 - Informante de Beneficiarios Finales

Usuarios aduaneros

54. Código 2 3

Exportadores

55. Forma	56. Tipo	Servicio	1	2	3
		57. Modo			
		58. CPC			

IMPORTANTE: Sin perjuicio de las actualizaciones a que haya lugar, la inscripción en el Registro Único Tributario -RUT-, tendrá vigencia indefinida y en consecuencia no se exigirá su renovación

Para uso exclusivo de la DIAN

59. Anexos SI [ ] NO [X] 60. No. de Folios: 0 61. Fecha 2023 - 11 - 27 / 17 : 20: 28

La información suministrada a través del formulario oficial de inscripción, actualización, suspensión y cancelación del Registro Único Tributario (RUT), deberá ser exacta y veraz; en caso de constatar inexactitud en alguno de los datos suministrados se adelantarán los procedimientos administrativos sancionatorios o de suspensión, según el caso, Parágrafo del artículo 1.6.1.2.6 del Decreto 1625 del 2016. De igual manera al formalizar el trámite el usuario fue informado y acepta la política de tratamiento de datos ley 1581 de 2012.
Firma del solicitante:

Sin perjuicio de las verificaciones que la DIAN realice.
Firma autorizada:

984. Nombre GIRALDO CANO SANDRA MILENA
985. Cargo Representante legal Certificado

DOCUMENTO CERTIFICADO SIN COSTO

DIAN

Formulario del Registro Único Tributario

001

Página 2 de 5 **Hoja 2**

Espacio reservado para la DIAN

4. Número de formulario: 14964806363

(415)7707212489984(8020) 000001496480636 3

5. Número de Identificación Tributaria (NIT)	6. DV	12. Dirección seccional	14. Buzón electrónico
8 3 0 1 4 1 3 9 4	2	Impuestos de Bogotá	

Características y formas de las organizaciones

62. Naturaleza	2	63. Formas asociativas	1 2	64. Entidades o institutos de derecho público de orden nacional, departamental, municipal y descentralizados	
65. Fondos		66. Cooperativas		67. Sociedades y organismos extranjeros	
68. Sin personería jurídica		69. Otras organizaciones no clasificadas		70. Beneficio	1

Constitución, Registro y Última Reforma

Documento	1. Constitución	2. Reforma
71. Clase	0 5	0 1
72. Número	2 4 8 1	1 1
73. Fecha	2 0 0 4 0 5 1 9	2 0 1 1 0 9 1 9
74. Número de notaría	1 3	
75. Entidad de registro	0 3	0 3
76. Fecha de registro	2 0 0 4 0 5 2 7	2 0 1 1 0 9 2 9
77. No. Matrícula mercantil	0 1 3 8 0 2 2 5	0 1 5 3 1 3 1 5
78. Departamento	1 1	1 1
79. Ciudad/Municipio	4	4

Vigencia

80. Desde	2 0 0 4 0 5 1 9
81. Hasta	2 0 2 4 0 5 1 9

Composición del Capital

82. Nacional	1 0 0 %
83. Nacional público	0 . 0 %
84. Nacional privado	1 0 0 . 0 %
85. Extranjero	0 %
86. Extranjero público	0 . 0 %
87. Extranjero privado	0 . 0 %

Entidad de vigilancia y control

88. Entidad de vigilancia y control: Superintendencia de Sociedades — 5

Estado y Beneficio

Ítem	89. Estado actual	90. Fecha cambio de estado	91. Número de Identificación Tributaria (NIT)	92. DV
1	8 0	2 0 1 5 0 1 0 1		-
2				-
3				-
4				-
5				-

Vinculación económica

93. Vinculación económica	94. Nombre del grupo económico y/o empresarial	95. Número de Identificación Tributaria (NIT) de la Matriz o Controlante	96. DV.

97. Nombre o razón social de la matriz o controlante

170. Número de identificación tributaria otorgado en el exterior	171. País	172. Número de identificación tributaria sociedad o natural del exterior con EP	

173. Nombre o razón social de la sociedad o natural del exterior con EP

COPIA CERTIFICADO DOCUMENTO SIN COSTO

DIAN

Formulario del Registro Único Tributario
Representación

001

Página 3 de 5 **Hoja 3**

Espacio reservado para la DIAN

4. Número de formulario: 14964806363

(415)7707212489984(8020) 000001496480636 3

5. Número de Identificación Tributaria (NIT)	6. DV	12. Dirección seccional	14. Buzón electrónico
8 3 0 1 4 1 3 9 4	2	Impuestos de Bogotá	3 2

Representación

1

98. Representación	99. Fecha inicio ejercicio representación
REPRS LEGAL SUPL 1 9	2 0 1 9 1 1 1 8

100. Tipo de documento	101. Número de identificación	102. DV	103. Número de tarjeta profesional
Cédula de Ciudadaní 1 3	7 9 7 8 0 2 5 8		

104. Primer apellido	105. Segundo apellido	106. Primer nombre	107. Otros nombres
DIAZ	MONDRAGON	MAURICIO	EDUARDO

108. Número de Identificación Tributaria (NIT)	109. DV	110. Razón social representante legal

2

98. Representación	99. Fecha inicio ejercicio representación
REPRS LEGAL PRIN 1 8	2 0 1 8 0 9 0 4

100. Tipo de documento	101. Número de identificación	102. DV	103. Número de tarjeta profesional
Cédula de Ciudadan 1 3	1 0 3 2 3 7 7 5 3 6		

104. Primer apellido	105. Segundo apellido	106. Primer nombre	107. Otros nombres
GIRALDO	CANO	SANDRA	MILENA

108. Número de Identificación Tributaria (NIT)	109. DV	110. Razón social representante legal

3

98. Representación	99. Fecha inicio ejercicio representación

100. Tipo de documento	101. Número de identificación	102. DV	103. Número de tarjeta profesional

104. Primer apellido	105. Segundo apellido	106. Primer nombre	107. Otros nombres

108. Número de Identificación Tributaria (NIT)	109. DV	110. Razón social representante legal

4

98. Representación	99. Fecha inicio ejercicio representación

100. Tipo de documento	101. Número de identificación	102. DV	103. Número de tarjeta profesional

104. Primer apellido	105. Segundo apellido	106. Primer nombre	107. Otros nombres

108. Número de Identificación Tributaria (NIT)	109. DV	110. Razón social representante legal

5

98. Representación	99. Fecha inicio ejercicio representación

100. Tipo de documento	101. Número de identificación	102. DV	103. Número de tarjeta profesional

104. Primer apellido	105. Segundo apellido	106. Primer nombre	107. Otros nombres

108. Número de Identificación Tributaria (NIT)	109. DV	110. Razón social representante legal

COPIA CERTIFICADO DOCUMENTO SIN COSTO

DIAN

Formulario del Registro Único Tributario
Revisor Fiscal y Contador

001

Página 5 de 5 **Hoja 5**

Espacio reservado para la DIAN

4. Número de formulario: 14964806363

(415)7707212489984(8020) 000001496480636 3

5. Número de Identificación Tributaria (NIT)	6. DV	12. Dirección seccional	14. Buzón electrónico
8 3 0 1 4 1 3 9 4	2	Impuestos de Bogotá	3 2

Revisor Fiscal y Contador

Revisor fiscal principal

124. Tipo de documento	125. Número de identificación	126. DV	127. Número de tarjeta profesional
Cédula de Ciudadanía 1 3	3 9 7 2 2 0 4 7	6	6 1 9 1 6 T

128. Primer apellido	129. Segundo apellido	130. Primer nombre	131. Otros nombres
VILLAVECES	MURILLO	CLAUDIA	PATRICIA

132. Número de Identificación Tributaria (NIT)	133. DV	134. Sociedad o firma designada

135. Fecha de nombramiento
2 0 2 3 1 1 2 1

Revisor fiscal suplente

136. Tipo de documento	137. Número de identificación	138. DV	139. Número de tarjeta profesional

140. Primer apellido	141. Segundo apellido	142. Primer nombre	143. Otros nombres

144. Número de Identificación Tributaria (NIT)	145. DV	146. Sociedad o firma designada

147. Fecha de nombramiento

Contador

148. Tipo de documento	149. Número de identificación	150. DV	151. Número de tarjeta profesional
Cédula de Ciudadanía 1 3	5 2 0 3 8 7 5 1	7	1 2 6 3 5 9 T

152. Primer apellido	153. Segundo apellido	154. Primer nombre	155. Otros nombres
DIAZ	ORTIZ	GLORIA	MARIA

156. Número de Identificación Tributaria (NIT)	157. DV	158. Sociedad o firma designada
8 0 0 2 2 3 6 2 3	8	CONAUDISIS Y ASOCIADOS S A S

159. Fecha de nombramiento
2 0 2 2 0 1 0 1

COPIA CERTIFICADO DOCUMENTO SIN COSTO

Claudia Patricia Villaveces Murillo
Contador Público
Universidad Piloto de Colombia
Tarjeta Profesional No. 61.916-T

EL SUSCRITO REVISOR FISCAL DE INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S., NIT 830.141.394-2

C E R T I F I C A:

1- Que de acuerdo con los registros contables y demás documentos soporte, la entidad ha dado cumplimiento en forma correcta y oportuna de sus obligaciones de autoliquidación y pago de los aportes al sistema de seguridad social integral y aportes parafiscales, de acuerdo con lo establecido en los artículos 11 y 12 del decreto 1406 de 1999, artículo 50 de la ley 789 de diciembre 27 de 2002 con relación al control a la evasión de los recursos parafiscales y de seguridad social.

2- Que los datos sobre los afiliados, sus bases de cotización y la información de las declaraciones de autoliquidación son correctos, que no existen irregularidades contables con relación a los aportes al sistema, especialmente las relativas a la base de cotización, aportes laborales y patronales.

3- Que la empresa como aportante, al cierre del periodo diciembre 31 de 2023 y lo transcurrido del año en curso hasta la fecha de expedición de la certificación, se encuentra a PAZ Y SALVO por el pago de los aportes al Sistema de Seguridad Social y parafiscales.

La presente se expide a petición del interesado y se firma en Bogotá D.C., a los dos días del mes de julio de dos mil veinticuatro (Bogotá, julio 02 de 2024).

Atentamente,

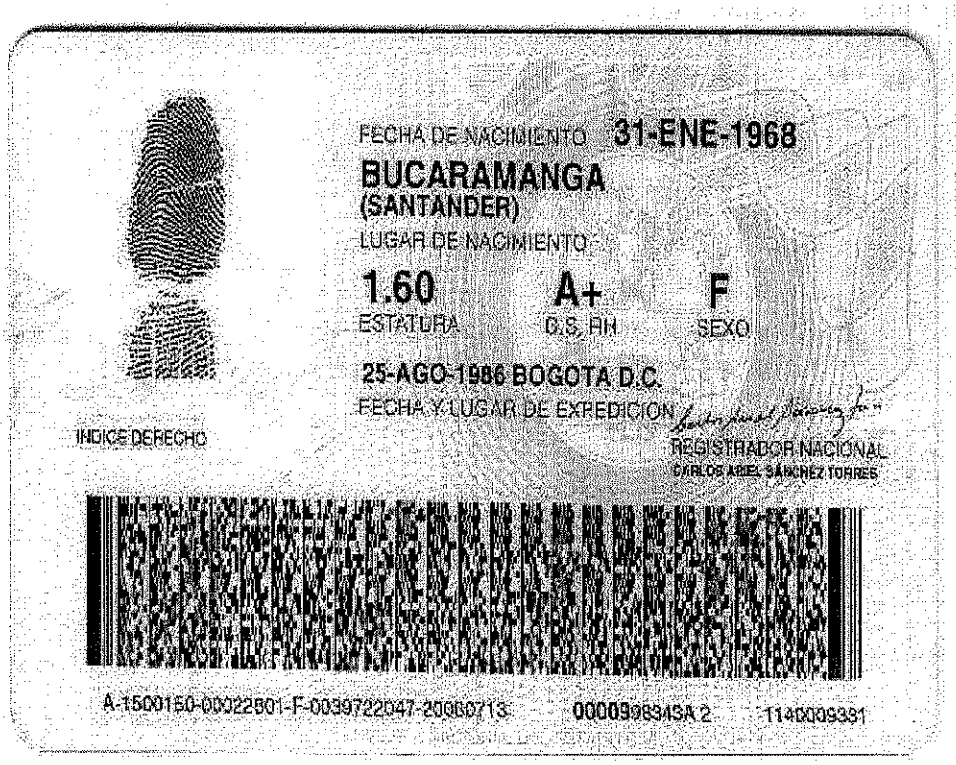
CLAUDIA PATRICIA VILLAVECES MURILLO
Revisor Fiscal
T.P No. 61.916-T



REPUBLICA DE COLOMBIA
IDENTIFICACION PERSONAL
CEDULA DE CIUDADANIA

NUMERO 39.722.047
VILLAVECES MURILLO
APELLIDOS
CLAUDIA PATRICIA
NOMBRES

FIRMA



FECHA DE NACIMIENTO 31-ENE-1968
BUCARAMANGA
(SANTANDER)
LUGAR DE NACIMIENTO

1.60 ESTATURA
A+ G.S. RH
F SEXO

25-AGO-1986 BOGOTA D.C.
FECHA Y LUGAR DE EXPEDICION

INDICE DERECHO

REGISTRADOR NACIONAL
CARLOS ARIEL SANCHEZ TORRES

A-1500150-00022601-F-0039722047-20060713 0000398345A 2 1140009331

República de Colombia
Ministerio de Educación Nacional
JUNTA CENTRAL DE CONTADORES
TARJETA PROFESIONAL
DE CONTADOR PUBLICO



61916-T

CLAUDIA PATRICIA
VILLAVECES MURILLO
C.C. 39722047
RESOLUCION INSCRIPCION 142 FECHA 03/12/98
UNIVERSIDAD PILOTO DE COLOMBIA

Presidente

0001 0168

FIRMA DEL TITULAR

018946

Esta tarjeta es el unico documento que lo acredita como CONTADOR PUBLICO de acuerdo con lo establecido en la ley 43 de 1990.
Agradecemos a quien encuentre esta tarjeta devolverla al Ministerio de Educacion Nacional - Junta Central de Contadores.

39722047

UNIDAD ADMINISTRATIVA ESPECIAL **JUNTA CENTRAL DE CONTADORES**

Certificado No:
99645856BF5D1FE5

LA REPUBLICA DE COLOMBIA

MINISTERIO DE COMERCIO, INDUSTRIA Y TURISMO

UNIDAD ADMINISTRATIVA ESPECIAL

JUNTA CENTRAL DE CONTADORES

CERTIFICA A:
QUIEN INTERESE

Que el contador público **CLAUDIA PATRICIA VILLAVECES MURILLO** identificado con CÉDULA DE CIUDADANÍA No 39722047 de OTRO (OTRO) Y Tarjeta Profesional No 61916-T SI tiene vigente su inscripción en la Junta Central de Contadores y desde la fecha de Inscripción.

NO REGISTRA ANTECEDENTES DISCIPLINARIOS *

Dado en BOGOTA a los 8 días del mes de Julio de 2024 con vigencia de (3) Meses, contados a partir de la fecha de su expedición.

DIRECTOR GENERAL

ESTE CERTIFICADO DIGITAL TIENE PLENA VALIDEZ DE CONFORMIDAD CON LO ESTABLECIDO EN EL ARTICULO 2 DE LA LEY 527 DE 1999, DECRETO UNICO REGLAMENTARIO 1074 DE 2015 Y ARTICULO 6 PARAGRAFO 3 DE LA LEY 962 DEL 2005

Para confirmar los datos y veracidad de este certificado, lo puede consultar en la página web www.jcc.gov.co digitando el número del certificado

compensar | miplanilla.com

PLANILLA INTEGRADA DE AUTOLIQUIDACION DE APORTES

DATOS DEL APORTANTE						
TIPO	NÚMERO	NOMBRE APORTANTE	DIRECCIÓN	TELÉFONO	CORREO	EXONERADO PAGO PARAFISCALES Y SALUD
NI	830141394-2	INMUNOTECH LABORATORIES SAS	CRA 9 48 40 PISO 5	4572377	GERENCIA@INMUNOTECHLAB.COM	
FORMA PRESENTACIÓN	CLASE APORTANTE	NOMBRE SUCURSAL / CÓDIGO	DEPARTAMENTO	CIUDAD / MUNICIPIO		
ÚNICA	B – menos de 200 c		BOGOTÁ D. C.	BOGOTÁ, D.C.		SI

DATOS DE LA PLANILLA						
PLANILLA ASOCIADA	FECHA PAGO ASOCIADA (DIA/MES/AÑO)	TIPO PLANILLA	FECHA PAGO (DIA/MES/AÑO)	NÚMERO PLANILLA	CANTIDAD	
					EMPLEADOS	UPC
					17	0
PERIODO SALUD	PERIODO PENSIONES				TOTAL A PAGAR	
2024-06	2024-05	E		77767720	$15.037.500	

TOTALES POR SUBSISTEMAS

TOTALES SALUD

Código EPS	Nombre	NIT	Cotización Obligatoria	UPC Adicional	Incapacidades		Licencia Maternidad		Días Mora	Valor Mora Cotización	Valor Mora UPC	Total a Pagar	No. Afiliados
					No. Autorización	Valor	No. Autorización	Valor					
EPS002	Salud Total EPS	800130907-4	81.900	0		0		0	0	0	0	81.900	1
EPS005	Sanitas EPS	800251440-6	68.000	0		0		0	0	0	0	68.000	1
EPS008	Compensar EPS	860066942-7	2.797.900	0		0		0	0	0	0	2.797.900	9
EPS010	EPS Sura	800088702-2	76.000	0		0		0	0	0	0	76.000	1
EPS017	Famisanar EPS	830003564-7	390.300	0		0		0	0	0	0	390.300	5

TOTALES PENSIÓN

Código AFP	Nombre	NIT	Cotización Obligatoria	Aporte Voluntario Afiliado	Aporte Voluntario Aportante	Aporte FSP - Solidaridad	Aporte FSP - Subsistencia	Días Mora	Valor Mora Cotización	Valor Mora FSP	Total a Pagar	No. Afiliados
230201	Proteccion (ING + Protaccion)	800229739-0	784.100	0	0	0	0	0	0		784.100	3
230301	Porvenir	800224808-8	1.159.600	0	0	0	0	0	0		1.159.600	4
231001	Colfondos	800227940-8	416.100	0	0	0	0	0	0		416.100	1
25-14	Colpensiones	900336004-7	5.273.000	0	0	77.600	77.600	0	0		5.428.200	8

TOTALES RIESGOS LABORALES

Código ARL	Nombre	NIT	Cotización Obligatoria	Incapacidades		Aportes Otros Sistemas	Valor Neto Cotización	Días Mora	Valor Mora Cotización	Subtotal Cotización	No. Radicado Saldo a Favor	Valor Saldo a Favor	Fondo Solidaridad	Total a Pagar	No. Afiliados
				No. Autorización	Valor										
14-11	ARL SURA	890903790-5	963.900				963.900	0	0	963.900			9.639	963.900	17

TOTALES CAJAS

Código CCF	Nombre	NIT	Valor Aporte	Días Mora	Valor Mora Aporte	Total a Pagar	No. Afiliados
CCF22	Colsubsidio	860007336-1	2.096.500	0	0	2.096.500	17

Este documento está clasificado como PRIVADO por parte de Compensar Operador de Información

compensar | miplanilla.com

PLANILLA INTEGRADA DE AUTOLIQUIDACION DE APORTES

DATOS DEL APORTANTE

TIPO	NÚMERO	NOMBRE APORTANTE		DIRECCIÓN	TELÉFONO	CORREO	EXONERADO PAGO PARAFISCALES Y SALUD
NI	830141394-2	INMUNOTECH LABORATORIES SAS		CRA 9 48 40 PISO 5	4572377	GERENCIA@INMUNOTECHLAB.COM	
FORMA PRESENTACIÓN	CLASE APORTANTE	NOMBRE SUCURSAL	CÓDIGO	DEPARTAMENTO	CIUDAD / MUNICIPIO		
ÚNICA	B -- menos de 200 c			BOGOTÁ D. C.	BOGOTÁ, D.C.		SI

DATOS DE LA PLANILLA

PLANILLA ASOCIADA	FECHA PAGO ASOCIADA (DIA/MES/AÑO)	TIPO PLANILLA	FECHA PAGO (DIA/MES/AÑO)	NÚMERO PLANILLA	CANTIDAD	
					EMPLEADOS	UPC
					17	0
PERIODO SALUD	PERIODO PENSIONES				TOTAL A PAGAR	
2024-06	2024-05	E		77767720	$15.037.500	

TOTALES PARAFISCALES

Valor Aporte	Días Mora	Valor Mora Aporte	Total a Pagar	No. Afiliados
SENA				
310,000	0	0	310,000	1
ICBF				
465,000	0	0	465,000	1
ESAP				
MEN				

TOTALES POR SUBSISTEMA

Tipo Administradora	No. Administradoras Reportadas	Valor antes de IGE, LMA, IRP y Mora	Total a Pagar
Salud	5	3,414,100	3,414,100
Pensión	4	7,788,000	7,788,000
Riesgos Laborales	1	963,900	963,900
CCF	1	2,096,500	2,096,500
ESAP	0	0	0
ICBF	1	465,000	465,000
MEN	0	0	0
SENA	1	310,000	310,000
TOTALES	13	15,037,500	15,037,500

Este documento está clasificado como PRIVADO por parte de Compensar Operador de Información

compensar | miplanilla.com

PLANILLA INTEGRADA DE AUTOLIQUIDACION DE APORTES

DATOS DEL APORTANTE						
TIPO	NÚMERO	NOMBRE APORTANTE	DIRECCIÓN	TELÉFONO	CORREO	EXONERADO PAGO PARAFISCALES Y SALUD
NI	830141394-2	INMUNOTECH LABORATORIES SAS	CRA 9 48 40 PISO 5	4572377	GERENCIA@INMUNOTECHLAB.COM	
FORMA PRESENTACIÓN	CLASE APORTANTE	NOMBRE SUCURSAL / CÓDIGO	DEPARTAMENTO	CIUDAD / MUNICIPIO		
ÚNICA	B – menos de 200 c		BOGOTÁ D. C.	BOGOTÁ, D.C.		SI

DATOS DE LA PLANILLA						
PLANILLA ASOCIADA	FECHA PAGO ASOCIADA (DIA/MES/AÑO)	TIPO PLANILLA	FECHA PAGO (DIA/MES/AÑO)	NÚMERO PLANILLA	CANTIDAD	
					EMPLEADOS	UPC
					17	0
PERIODO SALUD	PERIODO PENSIONES				TOTAL A PAGAR	
2024-06	2024-05	E		77767720	$15.037.500	

DETALLE POR COTIZANTE

INFORMACIÓN COTIZANTE									INFORMACIÓN NOVEDADES																PENSIÓN							SALUD			RIESGOS LABORALES				CCF			PARAFISCALES				
No.	Tipo	No. de identificación	Apellidos y Nombres	Cotizante	Subtipo	Extranjero	Colom. exterior	Estudiante	ING	RET	TDE	TAE	TDP	TAP	VSP	VST	SLN	IGE	LMA	VAC	AVP	VCT	IRL	CORRECCION	Cód. AFP	IBC AFP	Cotización	Voluntario o Afiliado	Voluntario Aportante	Fondo pensional de solidaridad	Fondo pensional de subsistencia	Cód. EPS	IBC EPS	Cotización / Valor UPC	Cód. ARL	IBC ARL	Clase de Riesgo	Cotización	Código CCF	IBC CCF	Aporte CCF	IBC otros parafiscales	Aporte SENA	Aporte ICBF	Aporte ESAP	Aporte MEN
1	CC	1001043753	SANCHEZ RAMIREZ JORGE DAVID	1	0			S																230301	1.866.667	298.700	0	0	0	0	EPS008	1.866.667	74,700	14-11	1.866.667	3	45.500	CCF22	1.866.667	74.700	0	0	0	0	0
2	CC	1001043753	SANCHEZ RAMIREZ JORGE DAVID	1	0			S												X				230301	133,334	21,400	0	0	0	0	EPS008	133,334	5,400	14-11	133,334	3	0	CCF22	133,334	5,400	0	0	0	0	0
3	CC	1015421262	PATIÑO MUNAR SANDRA MILENA	1	0			S								X								25-14	2,879,901	460,800	0	0	0	0	EPS017	2,879,901	115,200	14-11	2,879,901	3	70,200	CCF22	2,879,901	115,200	0	0	0	0	0
4	CC	1015421262	PATIÑO MUNAR SANDRA MILENA	1	0			S												X				25-14	476,134	76,200	0	0	0	0	EPS017	476,134	19,100	14-11	476,134	3	0	CCF22	476,134	19,100	0	0	0	0	0
5	CC	1015999008	MELO VARGAS DIANA CAROLINA	1	0			S																230201	1,773,334	283,800	0	0	0	0	EPS008	1,773,334	71,000	14-11	1,773,334	3	43,200	CCF22	1,773,334	71,000	0	0	0	0	0
6	CC	1015999008	MELO VARGAS DIANA CAROLINA	1	0			S												X				230201	126,667	20,300	0	0	0	0	EPS008	126,667	5,100	14-11	126,667	3	0	CCF22	126,667	5,100	0	0	0	0	0
7	CC	1016039828	ARIAS FORERO ANGIE PAOLA	1	0			S																25-14	1,800,000	288,000	0	0	0	0	EPS008	1,800,000	72,000	14-11	1,800,000	3	43,900	CCF22	1,800,000	72,000	0	0	0	0	0
8	CC	1016039828	ARIAS FORERO ANGIE PAOLA	1	0			S												X				25-14	1,200,000	192,000	0	0	0	0	EPS008	1,200,000	48,000	14-11	1,200,000	3	0	CCF22	1,200,000	48,000	0	0	0	0	0
9	CC	1022396676	HERNANDEZ MORENO LINA MARIA	1	0			S																25-14	1,600,000	256,000	0	0	0	0	EPS017	1,600,000	64,000	14-11	1,600,000	3	39,000	CCF22	1,600,000	64,000	0	0	0	0	0
10	CC	1032377535	GIRALDO CANO SANDRA MILENA	1	0			S																25-14	4,700,000	752,000	0	0	0	0	EPS008	4,700,000	188,000	14-11	4,700,000	3	114,500	CCF22	4,700,000	188,000	0	0	0	0	0
11	CC	1233490212	CRUZ ARENAS JULIETH MILENA	1	0			S																231001	2,426,667	388,300	0	0	0	0	EPS008	2,426,667	97,100	14-11	2,426,667	3	59,200	CCF22	2,426,667	97,100	0	0	0	0	0
12	CC	1233490212	CRUZ ARENAS JULIETH MILENA	1	0			S												X				231001	173,334	27,800	0	0	0	0	EPS008	173,334	7,000	14-11	173,334	3	0	CCF22	173,334	7,000	0	0	0	0	0
13	CC	23454250	NIÑO ARAQUE MARLENI	1	0			S																25-14	1,600,000	256,000	0	0	0	0	EPS017	1,600,000	64,000	14-11	1,600,000	3	39,000	CCF22	1,600,000	64,000	0	0	0	0	0
14	CC	35501126	YARA MARLENY	1	0			S																25-14	1,900,000	304,000	0	0	0	0	EPS010	1,900,000	76,000	14-11	1,900,000	3	46,300	CCF22	1,900,000	76,000	0	0	0	0	0
15	CC	41467223	MONDRAGON GUZMAN MARIA DEL CARMEN	1	1			S																	0	0	0	0	0	0	EPS008	2,350,000	94,000	14-11	2,350,000	3	57,300	CCF22	2,350,000	94,000	0	0	0	0	0
16	CC	41467223	MONDRAGON GUZMAN MARIA DEL CARMEN	1	1			S												X					0	0	0	0	0	0	EPS008	2,350,000	94,000	14-11	2,350,000	3	0	CCF22	2,350,000	94,000	0	0	0	0	0
17	CC	79780258	DIAZ MONDRAGON MAURICIO EDUARDO	1	0			N																25-14	7,750,000	1,240,000	0	0	38,800	38,800	EPS008	7,750,000	968,800	14-11	7,750,000	3	188,800	CCF22	7,750,000	310,000	7,750,000	155,000	232,500	0	0
18	CC	79780258	DIAZ MONDRAGON MAURICIO EDUARDO	1	0			N												X				25-14	7,750,000	1,240,000	0	0	38,800	38,800	EPS008	7,750,000	968,800	14-11	7,750,000	3	0	CCF22	7,750,000	310,000	7,750,000	155,000	232,500	0	0
19	CC	80056110	LEON SOLANO ANDRES	1	0			S																230201	1,700,000	272,000	0	0	0	0	EPS005	1,700,000	68,000	14-11	1,700,000	3	41,500	CCF22	1,700,000	68,000	0	0	0	0	0
20	CC	80056562	GUATAQUI OJEDA HECTOR JAVIER	1	0			S																230301	1,600,000	256,000	0	0	0	0	EPS017	1,600,000	64,000	14-11	1,600,000	3	39,000	CCF22	1,600,000	64,000	0	0	0	0	0
21	CC	1045700762	GONZALEZ SALEBE VICTOR MANUEL	1	0			S																230201	650,000	104,000	0	0	0	0	EPS008	650,000	26,000	14-11	650,000	3	16,900	CCF22	650,000	26,000	0	0	0	0	0
22	CC	1045700762	GONZALEZ SALEBE VICTOR MANUEL	1	0			S												X				230201	650,000	104,000	0	0	0	0	EPS008	650,000	26,000	14-11	650,000	3	0	CCF22	650,000	26,000	0	0	0	0	0
23	CC	1034397043	DIAZ CEPEDA MARIANA	1	0			S																25-14	1,300,000	208,000	0	0	0	0	EPS008	1,300,000	52,000	14-11	1,300,000	3	31,700	CCF22	1,300,000	52,000	0	0	0	0	0
24	CC	1018403045	BERMEO MARTINEZ JAIME GUILLERMO	1	0			S																230301	1,600,000	256,000	0	0	0	0	EPS017	1,600,000	64,000	14-11	1,600,000	3	39,000	CCF22	1,600,000	64,000	0	0	0	0	0
25	CC	1033756265	GUERRA CASTILLO FRANCELY PAOLA	1	0			S								X								230301	2,046,875	327,500	0	0	0	0	EPS002	2,046,875	81,900	14-11	2,046,875	3	49,900	CCF22	2,046,875	81,900	0	0	0	0	0

Este documento está clasificado como PRIVADO por parte de Compensar Operador de Información

PROCURADURIA GENERAL DE LA NACION

CERTIFICADO DE ANTECEDENTES

CERTIFICADO ORDINARIO
No. 250057163

PIB
18:40:22
Hoja 1 de 01

Bogotá DC, 05 de julio del 2024

La PROCURADURIA GENERAL DE LA NACIÓN certifica que una vez consultado el Sistema de Información de Registro de Sanciones e Inhabilidades (SIRI), la persona INMUNOTECH LABORATORIES S A S identificado(a) con NIT número 8301413942:

NO REGISTRA SANCIONES NI INHABILIDADES VIGENTES

ADVERTENCIA: La certificación de antecedentes contiene las anotaciones de las sanciones o inhabilidades que se encuentren vigentes. Cuando se trate de nombramiento o posesión en cargos que exijan para su desempeño ausencia de antecedentes, se certificarán todas las anotaciones que figuren en el registro. Anterior, de acuerdo a los incisos 3o. y 4o. del artículo 238 Ley 1952 de 2019.

NOTA: El certificado de antecedentes disciplinarios es un documento que contiene las anotaciones e inhabilidades generadas por sanciones penales, disciplinarias, inhabilidades que se deriven de las relaciones contractuales con el estado, de los fallos con responsabilidad fiscal, de las decisiones de pérdida de investidura y de las condenas proferidas contra servidores, ex servidores públicos y particulares que desempeñen funciones públicas en ejercicio de la acción de repetición o llamamiento en garantía. **Este documento tiene efectos para acceder al sector público, en los términos que establezca la Constitución Política y la ley particular o demás disposiciones vigentes.** El Sistema SIRI reporta como antecedentes solamente las sanciones con debida ejecutoria recibidas de las autoridades nacionales colombianas. En caso de nombramiento o suscripción de contratos con el Estado, es responsabilidad de la Entidad, validar la información de antecedentes del aspirante en la página web: https://www.procuraduria.gov.co/Pages/certificado-antecedentes.aspx

CARLOS ARTURO ARBOLEDA MONTOYA
Jefe División de Relacionamiento Con El Ciudadano

ATENCIÓN :
ESTE CERTIFICADO CONSTA DE 01 HOJA(S), SOLO ES VALIDO EN SU TOTALIDAD. VERIFIQUE QUE EL NUMERO DEL CERTIFICADO SEA EL MISMO EN TODAS LAS HOJAS.

PROCURADURIA GENERAL DE LA NACION

CERTIFICADO DE ANTECEDENTES

CERTIFICADO ORDINARIO
No. 250057069

PIB
18:37:46
Hoja 1 de 01

Bogotá DC, 05 de julio del 2024

La PROCURADURIA GENERAL DE LA NACIÓN certifica que una vez consultado el Sistema de Información de Registro de Sanciones e Inhabilidades (SIRI), el(la) señor(a) SANDRA MILENA GIRALDO CANO identificado(a) con Cédula de ciudadanía número 1032377536:

NO REGISTRA SANCIONES NI INHABILIDADES VIGENTES

ADVERTENCIA: La certificación de antecedentes contiene las anotaciones de las sanciones o inhabilidades que se encuentren vigentes. Cuando se trate de nombramiento o posesión en cargos que exijan para su desempeño ausencia de antecedentes, se certificarán todas las anotaciones que figuren en el registro. Anterior, de acuerdo a los incisos 3o. y 4o. del artículo 238 Ley 1952 de 2019.

NOTA: El certificado de antecedentes disciplinarios es un documento que contiene las anotaciones e inhabilidades generadas por sanciones penales, disciplinarias, inhabilidades que se deriven de las relaciones contractuales con el estado, de los fallos con responsabilidad fiscal, de las decisiones de pérdida de investidura y de las condenas proferidas contra servidores, ex servidores públicos y particulares que desempeñen funciones públicas en ejercicio de la acción de repetición o llamamiento en garantía. **Este documento tiene efectos para acceder al sector público, en los términos que establezca la Constitución Política y la ley particular o demás disposiciones vigentes.** El Sistema SIRI reporta como antecedentes solamente las sanciones con debida ejecutoria recibidas de las autoridades nacionales colombianas. En caso de nombramiento o suscripción de contratos con el Estado, es responsabilidad de la Entidad, validar la información de antecedentes del aspirante en la página web: https://www.procuraduria.gov.co/Pages/certificado-antecedentes.aspx

CARLOS ARTURO ARBOLEDA MONTOYA
Jefe División de Relacionamiento Con El Ciudadano

ATENCIÓN :
ESTE CERTIFICADO CONSTA DE 01 HOJA(S), SOLO ES VALIDO EN SU TOTALIDAD. VERIFIQUE QUE EL NUMERO DEL CERTIFICADO SEA EL MISMO EN TODAS LAS HOJAS.

CONTRALORÍA
GENERAL DE LA REPÚBLICA

LA CONTRALORÍA DELEGADA PARA RESPONSABILIDAD FISCAL , INTERVENCIÓN JUDICIAL Y COBRO COACTIVO

CERTIFICA:

Que una vez consultado el Sistema de Información del Boletín de Responsables Fiscales 'SIBOR', hoy viernes 05 de julio de 2024, a las 18:42:52, el número de identificación de la Persona Jurídica, relacionado a continuación, NO SE ENCUENTRA REPORTADO COMO RESPONSABLE FISCAL.

Tipo Documento	Número de identificación tributario
No. Identificación	8301413942
Código de Verificación	830141394224070518425 2

Esta Certificación es válida en todo el Territorio Nacional, siempre y cuando el tipo y número consignados en el respectivo documento de identificación, coincidan con los aquí registrados.

De conformidad con el Decreto 2150 de 1995 y la Resolución 220 del 5 de octubre de 2004, la firma mecánica aquí plasmada tiene plena validez para todos los efectos legales.

YEZID LOZANO PUENTES
Contralor Delegado

Generó: WEB

POLICÍA NACIONAL
DE COLOMBIA

INICIO CONTÁCTENOS PREGUNTAS FRECUENTES

Consulta en línea de Antecedentes Penales y Requerimientos Judiciales

La Policía Nacional de Colombia informa:
Que siendo las 06:44:01 PM horas del 05/07/2024, el ciudadano identificado con:
Cédula de Ciudadanía Nº **1032377536**
Apellidos y Nombres: **GIRALDO CANO SANDRA MILENA**

NO TIENE ASUNTOS PENDIENTES CON LAS AUTORIDADES JUDICIALES
de conformidad con lo establecido en el artículo 248 de la Constitución Política de Colombia.

En cumplimiento de la Sentencia SU-458 del 21 de junio de 2012, proferida por la Honorable Corte Constitucional, la leyenda "NO TIENE ASUNTOS PENDIENTES CON LAS AUTORIDADES JUDICIALES" aplica para todas aquellas personas que no registran antecedentes y para quienes la autoridad judicial competente haya decretado la extinción de la condena o la prescripción de la pena.

Esta consulta es válida siempre y cuando el número de identificación y nombres, correspondan con el documento de identidad registrado y solo aplica para el territorio colombiano de acuerdo a lo establecido en el ordenamiento constitucional.

Si tiene alguna duda con el resultado, consulte las **preguntas frecuentes** o acérquese a las instalaciones de la **Policía Nacional** más cercanas.

Volver al Inicio

Dirección: Avenida El Dorado # 75 – 25 barrio Modelia, Bogotá D.C.
Atención administrativa: Lunes a Viernes 8:00 am a 12:00 pm y 2:00 pm a 5:00 pm
Línea de atención al ciudadano: 5159700 ext. 30552 (Bogotá)
Resto del país: 018000 910 112
E-mail: dijn.araic-atc@policia.gov.co

Todos los derechos reservados

Policía Nacional de Colombia

(Default.aspx)

Portal de Servicios al Ciudadano PSC

Sistema Registro Nacional de Medidas Correctivas RNMC

Consulta Ciudadano

La Policía Nacional de Colombia informa:

Que a la fecha, 08/07/2024 09:07:56 a. m. el ciudadano con Cédula de Ciudadanía Nº. **1032377536 .**

NO TIENE MEDIDAS CORRECTIVAS PENDIENTES POR CUMPLIR.

De conformidad con la Ley 1801 de 2016 "Por la cual se expide el Código Nacional de Seguridad y Convivencia Ciudadana". Registro interno de validación No. **97581307** . La persona interesada podrá verificar la autenticidad del presente documento a través de la página web institucional digitando https://www.policia.gov.co, menú ciudadanos/ consulta medidas correctivas, con el documento de identidad y la fecha de expedición del mismo. Esta consulta es válida siempre y cuando el número de cédula corresponda con el documento de identidad suministrado.

Nueva Busqueda | Imprimir

INMUNOTECH

ANEXO No. 3
COMPROMISO ANTICORRUPCIÓN

Bogotá D.C., Julio 05 de 2024

Señores,
Hospital Universitario de Santander Gerencia
E. S. D.

REFERENCIA: PROCESO DE CONTRATACIÓN NUMERO 02-2024 - OBJETO - "SUMINISTRO DE ANTICUERPOS PARA LA REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA DE LA ESE HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER GRUPO A"

El suscrito: **INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.** representado por Sandra Milena Giraldo Cano en calidad de Representante Legal domiciliada en Bogotá D.C., identificada con cedula de ciudadanía No. 1.032.377.536 de Bogotá D.C., quien en adelante se llamará colectivamente el Proponente, manifiesto la voluntad de asumir, de manera unilateral, el presente COMPROMISO ANTICORRUPCION teniendo en cuenta las siguientes

CONSIDERACIONES:

1.) Que la ESE HUS, convocó el proceso No. 02-2024, con el objeto de: "SUMINISTRO DE ANTICUERPOS PARA LA REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA DE LA ESE HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER GRUPO A".

2.) Que es de interés del PROPONENTE apoyar la acción del Estado Colombiano y de la ESE HUS, en el implemento de mecanismos y normas para el fortalecimiento de la transparencia en los procesos contractuales y en la lucha contra la corrupción. 3.) Que el PROPONENTE tiene interés en el presente proceso contractual referido en el primer considerando, y se encuentra dispuesto a suministrar la información necesaria para la transparencia del proceso, y en tal sentido suscribe el presente documento unilateral anticorrupción, que se regirá por las siguientes:

CLAUSULAS:

CLAUSULA PRIMERA: El proponente apoyará la acción del Estado Colombiano y de la ESE HUS, para fortalecer la transparencia y la responsabilidad de rendir cuentas, y en este contexto deberá asumir explícitamente los siguientes compromisos, sin perjuicio de su obligación de cumplir la Constitución Política y la Ley, así:

1. El proponente se compromete a no ofrecer y no dar dádivas, sobornos o cualquier forma de halago, retribuciones o prebenda a servidores públicos o asesores de la Entidad Contratante, directamente o a través de sus empleados, contratistas o tercero.

2. El proponente se compromete a no efectuar acuerdos, o realizar actos o conductas que tengan por objeto o efecto la colusión en el presente Proceso de Contratación.

3. El proponente se compromete a revelar la información que sobre el presente Proceso de Contratación nos soliciten los organismos de control de la República de Colombia.

4. El proponente se compromete a comunicar a nuestros empleados y asesores el contenido del presente Compromiso Anticorrupción, explicar su importancia y las consecuencias de su incumplimiento por nuestra parte, y la de nuestros empleados o asesores.

5. El proponente se compromete a ceder el contrato si llegare a sobrevenir una inhabilidad o incompatibilidad prevista en la Constitución o en la Ley, previa autorización escrita de la ESE HUS, y si ello no fuere posible renunciaré a la ejecución del mismo, de conformidad con lo previsto en el artículo 9°,de la Ley 80 de 1993.

6. El proponente se compromete a desarrollar todas sus actividades en el marco de principios éticos y a asumir con seriedad y responsabilidad todos los compromisos relacionados con el presente contrato.

7. El proponente se compromete a suministrar al HUS, cualquier información sobre actos de corrupción, soborno, subjetividad, presión o favorecimiento en el desarrollo del proceso contractual, del que tenga o llegare a tener conocimiento.

INMUNOTECH

8. El proponente se compromete a cumplir todas las obligaciones, cargas y los términos en general, previstos en la invitación de la referencia y en el contrato.

9. El proponente se compromete a desarrollar todas las actividades en el marco de principios éticos y a asumir con seriedad y responsabilidad todos los compromisos relacionados con el presente contrato.

CLAUSULA SEGUNDA: El proponente asume a través de la suscripción del presente compromiso, las consecuencias previstas en la invitación, si se comprobare, de la manera prevista en los mismos, el incumplimiento de los compromisos en materia de anticorrupción. En constancia de lo anterior y como manifestación de aceptación de los compromisos unilaterales previstos en el presente documento, se firma el mismo en la ciudad de Bogotá D.C. el día 05 del mes de Julio de 2024.

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
C.C. 1.032.377.536
RL Y GERENTE GENERAL
INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.
TEL: 457 23 77 – 311 208 1996

INMUNOTECH

ANEXO No. 4
CERTIFICADO DE INHABILIDADES E INCOMPATIBILIDADES

El suscrito a saber: Sandra Milena Giraldo Cano identificada con la cédula de ciudadanía No. 1.1032.377.536, expedida en Bogotá D.C., quien obra en calidad representante legal, quien en adelante se denominará EL PROPONENTE, manifiesta su voluntad de asumir de manera unilateral, el presente compromiso dentro del proceso No. 02-2024, invitación a presentar propuesta. OBJETO: "SUMINISTRO DE ANTICUERPOS PARA LA REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA DE LA ESE HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER GRUPO A" teniendo en cuenta las siguientes consideraciones:

1. Que es interés y expresa voluntad del proponente apoyar la acción de la ESE HUS para fortalecer la transparencia en las modalidades de selección, mediante el cual se escoge al contratista, y la responsabilidad de rendir cuentas.

2. Que es mi interés en calidad de proponente participar en el presente proceso de contratación precitado, así mismo, manifiesto bajo la gravedad del juramento que no me encuentro incurso en ninguna inhabilidades e incompatibilidad previstas en los artículos 8°, 9° y 10° de la Ley 80 de 1993, en especial en el artículo 18 de la Ley 1150 de 2007 y artículo 90 de la Ley 1474 de 2011 y en las demás normas que la modifiquen o adicionen, en cuanto sean pertinentes.

Por lo anterior CERTIFICO no estar incurso en inhabilidades e incompatibilidades con la sola presentación de la propuesta.

La presente certificación se expide a los (5) cinco días del mes de Julio del año 2024, para efectos del proceso N° 02-2024 y para los fines de la celebración del contrato si a este hay lugar.

INMUNOTECH

El proponente

FIRMA:

NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL NOMBRE O RAZON SOCIAL:
INMUNOTECH LABBORATORIES S.A.S.
NIT O C.C.: 830.141.394-2
CIUDAD: BOGOTÁ D.C.
DIRECCIÓN: CRA. 9 No. 48 - 40 PISO 5
TELÉFONO: 60 (1) 457 23 77
CELULAR: 311 208 1996
TELEFAX: N/A
E-MAIL: administracion@inmunotechlab.com

FORMULARIO ÚNICO DE CONOCIMIENTO
GDR-GDR-FO-06, Versión 3
GESTIÓN DIRECTIVA

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER
EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO

*DISPOSICIONES CONTENIDAS EN LA CIRCULAR EXTERNA 009 de 2016 Y CIRCULAR 20211700000005-5 de 2021 DE LA SUPERINTENDENCIA NACIONAL DE SALUD

Fecha de diligenciamiento 05 07 2024	Ciudad Bogotá D.C.	Tipo de Solicitud ☐ Vinculación ☐

1. INFORMACIÓN BÁSICA

Persona natural y persona jurídica (para persona jurídica serán los datos del representante legal)

Primer apellido: Giraldo	Segundo apellido: Cano	Nombre(s): Sandra Milena
Género F. ☒ M. ☐	Tipo de Documento C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Pasaporte. ☐ Carnet Diplomático ☐ Otro ¿Cuál? ___	Número: 1032377536
Fecha de expedición: 05 01 2005	Lugar de expedición: Bogotá D.C.	Fecha de nacimiento: 05 10 1986.
Nombre o razón social Inmunotech Laboratories S.A.S.	NIT 830.141.394	DIV 2.
Actividad económica (CIIU Código): 8691 -		
Teléfono móvil: 3112081996	Dirección de residencia: Av Cra. 1 # 42-60	
Teléfono fijo: 60 (1) 4572377	Dirección oficina: Cra. 9 # 48-40 Piso 5.	
Ciudad Bogotá D.C.	Departamento Cundinamarca	Empresa donde labora
Dirección oficina Cra 9 # 48-40	Teléfono 60 (1) 4572377	Email administracion@inmunotechlab.com
Ciudad de la empresa Bogotá D.C.	Tipo de Empresa ☐ Pública ☒ Privada ☐ Mixta	Otro ¿Cuál? ___
Ingresos mensuales pesos: 417'656.458		Activos (pesos): 3'740.685.668
Egresos mensuales pesos: 162'818.090		Pasivos (pesos): 1.841.907.178
Otros ingresos mensuales pesos: 23'812.092		Patrimonio (pesos): 1.898.778.491

Identificación de los accionistas o asociados que tengan directa o indirectamente más de 10% del capital social, aporte o participación (en caso de requerir más espacio debe anexarse la relación:

2. ACTIVIDAD ECONÓMICA (Persona natural y / o Jurídica)

Actividad Económica:
☐ Asalariado ☐ Socio ☒ Independiente ☐ Hogar ☐ Inversionista ☐ Pensionado ☐ Rentista ☐ Estudiante

Régimen: Común ☒ Simplificado ☐ Gran contribuyente ☐ No responsable ☐ Beneficiario Ley 1429 de 2010 ☐ Autor retenedor ☐
(En caso afirmativo, señale el No. de Resolución:) OTRO ___

Declarante de renta: Si ☒ No ☐

3. PERSONA POLÍTICAMENTE EXPUESTA (Persona Natural y/o Persona Jurídica)-Valores en Pesos

¿Por su cargo o actividad maneja recursos públicos? ☐ Si ☒ No	¿Por su cargo o actividad ejerce algún grado de poder público? ☐ Si ☒ No	
¿Por su actividad u oficio goza usted de reconocimiento público general?	Indique: ___	¿Es servidor público? ☐ Si ☒ No
¿Tiene usted la condición de personas expuesta políticamente?	Indique: ___	___ ___
¿Tiene algún vínculo con una persona considerada públicamente expuesta? ☐ Si ☒ No	Indique: ___	___
¿Es usted representante legal de una organización internacional? ☐ Si ☒ No Indique:		
¿Está usted sujeto a obligaciones tributarias en otro país o países? ☐ Si ☒ No Indique:		

FORMULARIO ÚNICO DE CONOCIMIENTO
GDR-GDR-FO-06, Versión 3
GESTIÓN DIRECTIVA

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER
EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO

*DISPOSICIONES CONTENIDAS EN LA CIRCULAR EXTERNA 009 de 2016 Y CIRCULAR 20211700000005-5 de 2021 DE LA SUPERINTENDENCIA NACIONAL DE SALUD

Tipo ID	Número ID	Razón Social o nombres completos	% Participación	¿Por su cargo o actividad maneja recursos públicos?	¿Por su actividad u oficio goza de reconocimiento público general?	¿Tiene algún vínculo con una persona considerada públicamente expuesta?	¿Está usted sujeto a obligaciones tributarias en otro país o países indique cual(es)?
C.C.	79.780.258	Mauricio Diaz M.	95%	Si ☐ No ☒	Si ☐ No ☒	Si ☐ No ☒	—
—	—	—	—	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	—
—	—	—	—	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	—
—	—	—	—	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	—
—	—	—	—	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	Si ☐ No ☐	—

4. DECLARACIÓN DE ORIGEN DE LOS BIENES Y/O FONDOS

Declaro expresamente que:

1. La actividad profesión u oficio del suscrito (persona o compañía) es lícita y se ejerce dentro del marco legal y los recursos de la misma no provienen de actividades ilícitas de las contempladas en el Código Penal Colombiano.
2. La información suministrada en la solicitud y en este documento es veraz y verificable y la suscrita (persona o compañía) se compromete a actualizarla anualmente.
3. Los recursos que se deriven del desarrollo de este contrato no se destinaran a la financiación del terrorismo, grupos terroristas o actividades terroristas.
4. Los recursos que posee la suscrita (persona o compañía) provienen de las actividades descritas anteriormente.
5. Los bienes y/o fondos relacionados o suministrados a la ESE HUS en desarrollo de las operaciones comerciales tienen como ORIGEN la siguiente fuente: Venta de Productos y Servicios y provienen del siguiente país: Colombia

5. ACTIVIDADES EN OPERACIONES INTERNACIONALES

¿Realiza operaciones en Moneda extranjera? ☒ Si
☐ No ¿Cuáles?

☒ Importaciones ☐ Exportaciones ☐ Inversiones ☐ Préstamos ☐ Pago de Servicios ☐ Transferencias ☐ Otras ¿Cuáles?

¿Posee productos financieros en el exterior? ☐ Si ☒ No

¿Posee cuentas en moneda extranjera? ☐ Si ☒ No En caso positivo describalo a continuación

Tipo de producto	Identificación o número de producto	Entidad	Monto	Ciudad	Pais	Moneda
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—

6. DOCUMENTOS REQUERIDOS

CONSULTA EN LÍNEA DE INHABILIDADES DE QUIENES HAYAN SIDO CONDENADOS POR DELITOS SEXUALES COMETIDOS CONTRA MENORES DE 18 AÑOS

La Policía Nacional de Colombia informa:

Que siendo las 09:16:14 horas del 08/07/2024, el ciudadano identificado con cédula de ciudadanía No. **1032337536,**

NO REGISTRA INHABILIDAD

La presente consulta se tendrá en consideración por la entidad o empresa **INMUNOTECH LABORATORIES**, con NIT **830141394-2** y su utilización es exclusivamente dentro del proceso de selección al cargo, oficio o profesión, en cumplimiento de la Ley 1918 del 12/07/2018 *"por medio de la cual se establece el régimen de inhabilidades a quienes hayan sido condenados por delitos sexuales cometidos contra menores, se crea el registro de inhabilidades y se dictan otras disposiciones"* y su Decreto Reglamentario 753 del 30/04/2019 *"por medio del cual se reglamenta la Ley 1918 de 2018"*, con observancia de las Leyes 1581 del 17/10/2012, 1712 del 06/03/2014 y demás normatividad rectora frente al tratamiento de datos.

https://inhabilidades.policia.gov.co:8080/consulta

COLOMBIA POTENCIA DE LA VIDA

TIC

MINISTERIO DE TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN Y LAS COMUNICACIONES - MINTIC

CERTIFICA QUE

Una vez consultada la base de datos de deudores alimentarios morosos **REDAM**, el(la) ciudadano(a) con número de identificación CC 1032377536 **NO SE ENCUENTRA INSCRITO EN EL REGISTRO DE DEUDORES ALIMENTARIOS MOROSOS**

Esta certificación es válida en todo el Territorio Nacional, siempre y cuando el tipo y número consignados en el respectivo documento de identificación, coincidan con los aquí registrados.

Se expide en Bogotá el 08/07/2024 09:20 AM

Código Verificación: **FK8CNX3PAR**

Válida hasta: **06/10/2024**

Dirección de Gobierno Digital

MINISTERIO DE TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN Y LAS COMUNICACIONES - MINTIC

INMUNOTECH

10.2. REQUISITOS DE ORDEN FINANCIERO

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE VIRTUAL

CÓDIGO VERIFICACIÓN: B24114237A2199

5 DE JULIO DE 2024 HORA 14:57:50

AB24114237 PÁGINA: 1 DE 7

* *

****

ESTE CERTIFICADO FUE GENERADO ELECTRONICAMENTE Y CUENTA CON UN CODIGO DE VERIFICACION QUE LE PERMITE SER VALIDADO SOLO UNA VEZ, INGRESANDO A WWW.CCB.ORG.CO

****

RECUERDE QUE ESTE CERTIFICADO LO PUEDE ADQUIRIR DESDE SU CASA U OFICINA DE FORMA FACIL, RAPIDA Y SEGURA EN WWW.CCB.ORG.CO

****

PARA SU SEGURIDAD DEBE VERIFICAR LA VALIDEZ Y AUTENTICIDAD DE ESTE CERTIFICADO SIN COSTO ALGUNO DE FORMA FÁCIL, RÁPIDA Y SEGURA EN WWW.CCB.ORG.CO/CERTIFICADOSELECTRONICOS/

****

CERTIFICADO DE INSCRIPCION Y CLASIFICACION REGISTRO UNICO DE PROPONENTES

CERTIFICA:

LA CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA, CON FUNDAMENTO EN LO DISPUESTO EN EL ARTICULO 6.1 DE LA LEY 1150 DE 2007, REGLAMENTADA POR DECRETO 1082 DE 2015, CON BASE EN LA INFORMACION SUMINISTRADA POR EL INSCRITO Y POR LAS ENTIDADES ESTATALES.

CERTIFICA:

IDENTIFICACION

QUE: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NIT: 830141394 2
NUMERO DEL PROPONENTE EN LA CAMARA DE COMERCIO: 00059254

CERTIFICA:

INSCRIPCION Y RENOVACION

FECHA DE INSCRIPCION EN EL REGISTRO DE LOS PROPONENTES: 2023/05/04
FECHA DE ULTIMA RENOVACION EN EL REGISTRO DE LOS PROPONENTES: 2024/04/25

CERTIFICA:

CONSTITUCION Y REPRESENTACION LEGAL

PERSONAS JURIDICAS INSCRITAS EN EL REGISTRO MERCANTIL O EN EL REGISTRO DE ENTIDADES SIN ANIMO DE LUCRO.

INFORMACION CONSTITUCION.

POR ESCRITURA PÚBLICA NO. 0002481 DEL 19 DE MAYO DE 2004 DE NOTARÍA 13 DE BOGOTÁ D.C., INSCRITO EN ESTA CÁMARA DE COMERCIO EL 27 DE MAYO DE 2004, CON EL NO. 00936268 DEL LIBRO IX, SE CONSTITUYÓ LA SOCIEDAD DE NATURALEZA COMERCIAL DENOMINADA INMUNOTECH LABORATORIES LTDA.
POR ACTA NO. 11 DE JUNTA DE SOCIOS DEL 19 DE SEPTIEMBRE DE 2011, INSCRITA EL 29 DE NOVIEMBRE DE 2011 BAJO EL NÚMERO 01531315 DEL LIBRO

Constanza del Pilar Puentes Trujillo

IX, LA SOCIEDAD DE LA REFERENCIA SE TRANSFORMÓ DE SOCIEDAD LIMITADA A SOCIEDAD POR ACCIONES SIMPLIFICADA BAJO EL NOMBRE DE: INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.
LA PERSONA JURÍDICA NO SE ENCUENTRA DISUELTA Y SU DURACIÓN ES INDEFINIDA.

REPRESENTACION LEGAL

LA SOCIEDAD TENDRÁ UN GERENTE, QUIEN EJERCERÁ LA REPRESENTACIÓN LEGAL DE LA SOCIEDAD, EL CUAL SERÁ ELEGIDO POR LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS PARA PERÍODOS DE UN (1) AÑO. IGUALMENTE TENDRÁ UN SUPLENTE QUIEN SERÁ EL SUBGERENTE, CON LAS MISMAS FACULTADES DEL GERENTE, SIN PERJUICIO DE QUE LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS, PUEDA REMOVERLOS LIBREMENTE EN CUALQUIER MOMENTO.POR ACTÀ NO. 22 DEL 4 DE SEPTIEMBRE DE 2018, DE ASAMBLEA DE
ACCIONISTAS, INSCRITA EN ESTA CÁMARA DE COMERCIO EL 17 DE SEPTIEMBRE DE 2018 CON EL NO. 02377158 DEL LIBRO IX, SE DESIGNÓ A:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
GERENTE	SANDRA MILENA GIRALDO CANO	C.C. NO. 1032377536

POR ACTA NO. 23 DEL 18 DE NOVIEMBRE DE 2019, DE ASAMBLEA DE ACCIONISTAS, INSCRITA EN ESTA CÁMARA DE COMERCIO EL 26 DE DICIEMBRE DE 2019 CON EL NO. 02536938 DEL LIBRO IX, SE DESIGNÓ A:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
REPRESENTANTE LEGAL SUPLENTE (SUBGERENTE).	MAURICIO EDUARDO DIAZ MONDRAGON	C.C. NO. 79780258

FACULTADES:
LA REPRESENTACIÓN LEGAL DE LA SOCIEDAD POR ACCIONES SIMPLIFICADA ESTARÁ A CARGO DE UN GERENTE, PERSONA NATURAL O JURÍDICA, ACCIONISTA O NO, QUIEN TENDRÁ SU RESPECTIVO SUPLENTE EL CUAL TENDRÁ LAS MISMAS FUNCIONES Y FACULTADES DEL GERENTE, DESIGNADOS POR LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS. LAS FUNCIONES DEL GERENTE TERMINARÁN EN CASO DE DIMISIÓN O REVOCACIÓN POR PARTE DE LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS, DE DECESO O DE INCAPACIDAD EN AQUELLOS CASOS EN QUE EL GERENTE SEA UNA PERSONA NATURAL Y EN CASO DE LIQUIDACIÓN PRIVADA O JUDICIAL, CUANDO EL GERENTE SEA UNA PERSONA JURÍDICA. LA CESACIÓN DE LAS FUNCIONES DEL GERENTE, POR CUALQUIER CAUSA, NO DA LUGAR A NINGUNA INDEMNIZACIÓN DE CUALQUIER NATURALEZA, DIFERENTE DE AQUELLAS QUE LE CORRESPONDIEREN CONFORME A LA LEY LABORAL, SI FUERE EL CASO. LA REVOCACIÓN POR PARTE DE LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS NO TENDRÁ QUE ESTAR MOTIVADA Y PODRÁ REALIZARSE EN CUALQUIER TIEMPO. EN AQUELLOS CASOS EN QUE EL GERENTE SEA UNA PERSONA JURÍDICA, LAS FUNCIONES QUEDARÁN A CARGO DEL GERENTE DE ÉSTA. TODA REMUNERACIÓN A QUE TUVIERE DERECHO EL GERENTE DE LA SOCIEDAD DEBERÁ SER APROBADA POR LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS. FACULTADES; LA SOCIEDAD SERÁ ADMINISTRADA Y REPRESENTADA LEGALMENTE ANTE TERCEROS POR EL GERENTE QUIEN NO TENDRÁ RESTRICCIONES DE CONTRATACIÓN POR RAZÓN DE LA NATURALEZA NI DE LA CUANTÍA DE LOS ACTOS QUE CELEBRE. POR LO TANTO, SE ENTENDERÁ QUE EL GERENTE PODRÁ CELEBRAR O EJECUTAR TODOS LOS ACTOS Y CONTRATOS COMPRENDIDOS EN EL

OBJETO SOCIAL O QUE SE RELACIONEN DIRECTAMENTE CON LA EXISTENCIA Y EL FUNCIONAMIENTO DE LA SOCIEDAD. EL GERENTE SE ENTENDERÁ INVESTIDO DE LOS MÁS AMPLIOS PODERES PARA ACTUAR EN TODAS LAS CIRCUNSTANCIAS EN NOMBRE DE LA SOCIEDAD, CON EXCEPCIÓN DE AQUELLAS FACULTADES QUE, DE ACUERDO CON LOS ESTATUTOS, SE HUBIEREN RESERVADO LOS ACCIONISTAS. EN LAS RELACIONES FRENTE A TERCEROS, LA SOCIEDAD QUEDARÁ OBLIGADA POR LOS ACTOS Y CONTRATOS CELEBRADOS POR EL GERENTE. LE ESTÁ PROHIBIDO AL GERENTE Y A LOS DEMÁS ADMINISTRADORES DE LA SOCIEDAD, POR SÍ O POR INTERPUESTA PERSONA, OBTENER BAJO CUALQUIER FORMA O MODALIDAD JURÍDICA PRÉSTAMOS POR PARTE DE LA SOCIEDAD U OBTENER DE PARTE DE LA SOCIEDAD AVAL, FIANZA O CUALQUIER OTRO TIPO DE GARANTÍA DE SUS OBLIGACIONES PERSONALES. EL PRESIDENTE SOMETE A CONSIDERACIÓN DE LOS ACCIONISTAS EL PUNTO DE LA REFORMA DEL ARTÍCULO 40 DE LOS ESTATUTOS Y LA PROPUESTA ES APROBADA POR UNANIMIDAD.

LA INFORMACION ANTERIOR HA SIDO TOMADA DIRECTAMENTE DEL REGISTRO MERCANTIL O DE ENTIDADES SIN ANIMO DE LUCRO

CERTIFICA:
DOMICILIO

DIRECCION DEL DOMICILIO PRINCIPAL
CRA 9 NO. 48 40 P5
MUNICIPIO: BOGOTÁ D.C.
DEPARTAMENTO: CUNDINAMARCA
BARRIO: CHAPINERO MARLY
TELEFONO 1: 2327310
TELEFONO 2: 2852444
CELULAR: 3112081996
CORREO ELECTRONICO: MAURICIODIAZMONDRAGON@OUTLOOK.COM
A.A.: 0

DIRECCION PARA NOTIFICACION JUDICIAL
CRA 9 NO. 48 40 P 5
MUNICIPIO: BOGOTÁ D.C.
DEPARTAMENTO: CUNDINAMARCA
BARRIO: CHAPÍNERO MARLY
TELEFONO 1: 2327310
TELEFONO 2: 3112081996
CELULAR: 2852444
CORREO ELECTRONICO: MAURICIODIAZMONDRAGON@OUTLOOK.COM
A.A.: 0

LA INFORMACION ANTERIOR HA SIDO TOMADA DIRECTAMENTE DEL REGISTRO MERCANTIL O DE ENTIDADES SIN ANIMO DE LUCRO

CERTIFICA:
CLASIFICACION POR TAMAÑO DE LA EMPRESA

QUE EL INSCRITO SE CLASIFICO COMO:

PEQUEÑA EMPRESA

CERTIFICA:
INFORMACION FINANCIERA

QUE EN RELACIÓN A SU INFORMACIÓN FINANCIERA EL PROPONENTE REPORTÓ:

FECHA DE CORTE DE LA INFORMACIÓN FINANCIERA:	31/12/2023
ACTIVO CORRIENTE:	$1.653.817.090,00
ACTIVO TOTAL:	$3.740.685.668,00
PASIVO CORRIENTE:	$1.267.756.416,00
PASIVO TOTAL:	$1.841.907.178,00
PATRIMONIO:	$1.898.778.490,00
UTILIDAD/PERDIDA OPERACIONAL:	$386.965.094,00
GASTOS DE INTERESES:	$353.428,00

ESTA INFORMACION FUE OBJETO DE VERIFICACIÓN DOCUMENTAL POR PARTE DE LA CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ.

CERTIFICA:
CAPACIDAD FINANCIERA

QUE EN RELACIÓN A LOS INDICADORES DE LA CAPACIDAD FINANCIERA EL PROPONENTE REPORTÓ CON CORTE A 31/12/2023:

INDICE DE LIQUIDEZ:	1,30
INDICE DE ENDEUDAMIENTO:	0,49
RAZON DE CORBERTURA DE INTERESES:	1.094,89

ESTA INFORMACIÓN FUE OBJETO DE VERIFICACIÓN DOCUMENTAL POR PARTE DE LA CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ.

CERTIFICA:
CAPACIDAD ORGANIZACIONAL

QUE EN RELACIÓN A LOS INDICADORES DE LA CAPACIDAD ORGANIZACIONAL EL PROPONENTE REPORTÓ CON CORTE A 31/12/2023:

RENTABILIDAD DEL PATRIMONIO:	0,20
RENTABILIDAD DEL ACTIVO:	0,10

ESTA INFORMACIÓN FUE OBJETO DE VERIFICACIÓN DOCUMENTAL POR PARTE DE LA CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ.

CERTIFICA:
CLASIFICACION

QUE EN RELACION A LOS BIENES, OBRAS Y SERVICIOS QUE OFRECERA A LAS ENTIDADES ESTATALES, IDENTIFICADOS CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL (CLASE), EL PROPONENTE REPORTO:

==========

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE VIRTUAL

CÓDIGO VERIFICACIÓN: B24114237A2199

5 DE JULIO DE 2024 HORA 14:57:50

AB24114237 PÁGINA: 3 DE 7

* *

SEGM	FAMI	CLAS	PROD	DESCRIPCION
41	11	60	00	REACTIVOS DE ANALIZADORES CLÍNICOS Y DIAGNÓSTICOS
41	11	61	00	KITS DE ENSAYOS MANUALES, CONTROLES DE CALIDAD, CALIBRADORES Y NORMATIVAS
85	12	17	00	SERVICIOS DE PRESTADORES ESPECIALISTAS DE SERVICIOS DE SALUD
85	12	18	00	LABORATORIOS MÉDICOS

CERTIFICA:
EXPERIENCIA

QUE EN RELACION A LOS CONTRATOS EJECUTADOS EL PROPONENTE REPORTO:

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 1
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: NOVO COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 62,55
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 2
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: NOVO COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 164,24
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 3
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: NOVO COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 131,07
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD		SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00		85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 4
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: NOVO COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 172,89
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD		SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00		85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 5
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: NOVO COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 42,53
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD		SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00		85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 6
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: SERVICIO DE PATOLOGIA OSCAR MESSA BOTERO SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 98,96
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

==========

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 7
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: SERVICIO DE PATOLOGIA OSCAR MESSA BOTERO SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 288,32
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 8
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: SERVICIO DE PATOLOGIA OSCAR MESSA BOTERO SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 129,74
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 9
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: SERVICIO DE PATOLOGIA OSCAR MESSA BOTERO SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 132,34
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 10

CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: CITOPAT DE COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 188,92
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 11
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: CITOPAT DE COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 103,41
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 12
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: CITOPAT DE COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 75,02
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 13
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: CITOPAT DE COLOMBIA LTDA
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 135,06
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 14

CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: NOVO COLOMBIA SAS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 107,03
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 15
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER E.S.E.
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 64,40
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	17	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 16
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER E.S.E.
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 88,64
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	17	00

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 17
CONTRATO CELEBRADO POR:

PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER E.S.E.
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 52,07
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD		SEGM	FAMI	CLAS	PROD		SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00		85	12	17	00		85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 18
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: ESE HOSPITAL DPTAL UNIV DEL QUINDIO SAN JUAN DE DIOS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 5,50
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 19
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: ESE HOSPITAL DPTAL UNIV DEL QUINDIO SAN JUAN DE DIOS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 7,24
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD		SEGM	FAMI	CLAS	PROD		SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00		85	12	17	00		85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 20
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER E.S.E.
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 167,30
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

==========

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 21
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER E.S.E.
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 173,15
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	61	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 22
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER E.S.E.
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 120,00
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 23
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: ESE HOSPITAL DPTAL UNIV DEL QUINDIO SAN JUAN DE DIOS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 5,00
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

==========

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 24
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: ESE HOSPITAL DPTAL UNIV DEL QUINDIO SAN JUAN DE DIOS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 2,15
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 25
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER E.S.E.
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 86,20
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 26
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: ESE HOSPITAL DPTAL UNIV DEL QUINDIO SAN JUAN DE DIOS
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 6,46
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
85	12	18	00

NUMERO CONSECUTIVO DEL REPORTE DEL CONTRATO EJECUTADO: 27
CONTRATO CELEBRADO POR:
PROPONENTE
NOMBRE DEL CONTRATISTA: INMUNOTECH LABORATORIES S A S
NOMBRE DEL CONTRATANTE: UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
VALOR DEL CONTRATO EJECUTADO EXPRESADO EN SMMLV: 10,00
CONTRATO EJECUTADO IDENTIFICADO CON EL CLASIFICADOR DE BIENES Y SERVICIOS EN EL TERCER NIVEL:

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE VIRTUAL

CÓDIGO VERIFICACIÓN: B24114237A2199

5 DE JULIO DE 2024 HORA 14:57:50

AB24114237 PÁGINA: 7 DE 7

* *

SEGM	FAMI	CLAS	PROD
41	11	60	00

ESTA INFORMACIÓN FUE OBJETO DE VERIFICACIÓN DOCUMENTAL POR PARTE DE LA CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ.

*****LA ANTERIOR INFORMACION CERTIFICADA YA SE ENCUENTRA EN FIRME*****

CERTIFICA:

QUE EL DIA 04 DEL MES DE MAYO DE 2023 EL PROPONENTE INSCRIBIO EL REGISTRO UNICO DE PROPONENTES BAJO EL NUMERO 00816401 DEL LIBRO PRIMERO DE LOS PROPONENTES, QUE ESTA INSCRIPCION SE PUBLICO EN EL REGISTRO UNICO EMPRESARIAL Y SOCIAL (RUES) EL DIA 04 DEL MES DE MAYO DE 2023.

QUE EL DIA 25 DEL MES DE ABRIL DE 2024 EL PROPONENTE RENOVO EL REGISTRO UNICO DE PROPONENTES BAJO EL NUMERO 00845582 DEL LIBRO PRIMERO DE LOS PROPONENTES, QUE ESTA INSCRIPCION SE PUBLICO EN EL REGISTRO UNICO EMPRESARIAL Y SOCIAL (RUES) EL DIA 25 DEL MES DE ABRIL DE 2024.

LA INFORMACION RELACIONADA CON LA INSCRIPCION AQUI CERTIFICADA, QUEDO EN FIRME DIEZ (10) DIAS HABILES DESPUES DE LA FECHA DE PUBLICACION (ARTICULO 6.3 DE LA LEY 1150 DE 2007).

EL SECRETARIO DE LA CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA,
VALOR : $ 68,000

****

PARA VERIFICAR QUE EL CONTENIDO DE ESTE CERTIFICADO CORRESPONDA CON LA INFORMACIÓN QUE REPOSA EN LOS REGISTROS PÚBLICOS DE LA CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ, EL CÓDIGO DE VERIFICACIÓN PUEDE SER VALIDADO POR SU DESTINATARIO SOLO UNA VEZ, INGRESANDO A WWW.CCB.ORG.CO

****

ESTE CERTIFICADO FUE GENERADO ELECTRÓNICAMENTE CON FIRMA DIGITAL Y

****

****

****

****

****

****

CUENTA CON PLENA VALIDEZ JURÍDICA CONFORME A LA LEY 527 DE 1999.
****

FIRMA MECÁNICA DE CONFORMIDAD CON EL DECRETO 2150 DE 1995 Y LA AUTORIZACIÓN IMPARTIDA POR LA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO, MEDIANTE EL OFICIO DEL 18 DE NOVIEMBRE DE 1996.



CONSTANZA PUENTES TRUJILLO

INMUNOTECH

INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.

Estados Financieros al 31 de diciembre de 2023 comparados con el año 2022.

INMUNOTECH

INMUNOTECH LABORATORIES SAS

NIT. 830.141.394-2

ESTADO DE SITUACION FINANCIERA AL 31 DE DICIEMBRE DE 2023 COMPARADO CON EL AÑO 2022

(Cifras expresadas en pesos colombianos)

CUENTAS	Notas	AÑO 2023 Dic.31	AÑO 2022 Dic.31	Variación Absoluta	Variación Relativa
ACTIVO					
ACTIVO CORRIENTE					
EFECTIVO Y EQUIVALENTES AL EFECTIVO	3	467,862,376	293,393,104	174,469,272	59%
ACTIVOS FINANCIEROS	4	120,000,000	120,000,000	-	0%
CUENTAS COMERCIALES POR COBRAR Y OTRAS CXC	5	473,052,657	629,558,381	(156,505,725)	-25%
ACTIVOS NO FINANCIEROS	6	502,792,990	409,783,798	93,009,192	23%
INVENTARIO	7	90,109,067	306,975,922	(216,866,855)	-71%
TOTAL ACTIVO CORRIENTE		**1,653,817,090**	**1,759,711,206**	**(105,894,115)**	**-6%**
ACTIVO NO CORRIENTE					
PROPIEDAD PLANTA Y EQUIPO	8				
CONSTRUCCIONES Y EDIFICACIONES		1,161,312,305	1,069,024,687	92,287,618	9%
EQUIPO DE OFICINA		125,326,640	108,218,740	17,107,900	16%
EQUIPOS DE COMPUTACION Y COMUNIC.		197,391,855	170,006,790	27,385,065	16%
EQUIPO MEDICO Y CIENTIFICO		48,568,252	48,568,252	-	0%
FLOTA Y EQUIPO DE TRANSPORTE		832,462,139	676,968,805	155,493,334	23%
DEPRECIACION ACUMULADA		(646,779,073)	(608,597,521)	(38,181,552)	6%
ACTIVOS DIFERIDOS	9				
GASTOS PAGADOS POR ANTICIPADO		368,586,461	-	368,586,461	0%
TOTAL PROPIEDAD PLANTA Y EQUIPO		**2,086,868,578**	**1,464,189,752**	**622,678,826**	**43%**
TOTAL ACTIVO		**3,740,685,668**	**3,223,900,958**	**516,784,710**	**16%**
PASIVO					
PASIVO CORRIENTE					
OTROS PASIVOS FINANCIEROS	10	-	24,691,118	(24,691,118)	0%
CUENTAS COMERCIALES Y OTRAS CXP	11	963,409,072	981,174,642	(17,765,570)	-2%
OTROS PASIVOS NO FINANCIEROS	12	30,741,000	7,662,000	23,079,000	301%
PASIVOS POR IMPUESTOS CORRIENTES	13	167,667,000	154,352,000	13,315,000	9%
BENEFICIOS A LOS EMPLEADOS	14	105,939,344	93,328,077	12,611,267	14%
TOTAL PASIVO CORRIENTE		**1,267,756,416**	**1,261,207,836**	**6,548,579**	**1%**
PASIVO NO CORRIENTE					
CUENTAS COMERCIALES Y OTRAS CXP	15	513,293,624	379,179,605	134,114,020	35%
PASIVO POR IMPUESTO DIFERIDO	16	60,857,137	51,628,376	9,228,762	18%
TOTAL PASIVO NO CORRIENTE		**574,150,762**	**430,807,980**	**143,342,781**	**33%**
TOTAL PASIVO		**1,841,907,178**	**1,692,015,817**	**149,891,361**	**9%**
PATRIMONIO	17				
CAPITAL PAGADO		100,000,000	100,000,000	-	0%
RESERVAS		285,595,899	285,595,899	-	0%
OTROS RESULTADO INTEGRAL NIIF EJERC. ANT.		464,655,381	396,806,505	67,848,876	17%
OTROS RESULTADO INTEGRAL NIIF PRES. EJERCICIO		83,058,856	67,848,876	15,209,980	0%
RESULTADO DE EJERCICIOS ANTERIORES		681,633,861	513,783,654	167,850,207	33%
RESULTADO DEL EJERCICIO		283,834,494	167,850,207	115,984,286	69%
TOTAL PATRIMONIO		**1,898,778,491**	**1,531,885,141**	**366,893,350**	**24%**
TOTAL PASIVO MAS PATRIMONIO		**3,740,685,668**	**3,223,900,958**	**516,784,710**	**16%**

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
Gerente

GLORIA MARIA DIAZ ORTIZ
Contador
T.P No. 126359-T

CLAUDIA PATRICIA VILLAVECES MURILLO
Revisor Fiscal
T.P. No. 61916-T

INMUNOTECH

INMUNOTECH LABORATORIES SAS

NIT. 830.141.394-2

ESTADO DE RESULTADOS INTEGRAL AL 31 DE DICIEMBRE DE 2023 COMPARADO CON EL AÑO 2022

Cifras expresadas en pesos colombianos

CUENTAS	Notas	AÑO 2023 Dic.31	Año 2022 Dic.31	DIFERENCIA (+ -)	Variación %
INGRESOS					
INGRESOS ORDINARIOS	18	5,011,865,501	3,942,688,160	1,069,177,341	27%
TOTAL INGRESOS		**5,011,865,501**	**3,942,688,160**	**1,069,177,341**	**27%**
COSTO DE VENTAS	19				
COMPRAS		1,838,039,076	1,977,237,958	(139,198,883)	-7%
GASTOS DE PERSONAL		833,044,246	690,694,717	142,349,529	21%
TOTAL COSTO DE VENTAS		**2,671,083,322**	**2,667,932,675**	**3,150,646**	**0%**
UTILIDAD BRUTA EN VENTAS		**2,340,782,180**	**1,274,755,485**	**1,066,026,695**	**84%**
GASTOS DE ADMINISTRACION	20				
HONORARIOS		507,607,846	165,760,601	341,847,245	206%
IMPUESTOS		270,906,888	121,537,094	149,369,794	123%
ARRENDAMIENTOS		39,751,565	35,314,373	4,437,192	13%
SEGUROS		33,148,772	20,529,787	12,618,985	61%
SERVICIOS		215,875,986	175,752,844	40,123,142	23%
GASTOS LEGALES		16,261,975	16,267,745	(5,770)	0%
MANTENIMIENTO Y REPARACIONES		261,554,464	77,091,812	184,462,652	239%
GASTOS DE VIAJE		216,212,168	47,110,294	169,101,873	359%
ADECUACION E INSTALACION		770,000	480,000	290,000	0%
DEPRECIACION		144,597,302	130,089,580	14,507,722	11%
AMORTIZACIONES		-	-	-	0%
GASTOS DIVERSOS		247,130,119	87,342,675	159,787,444	183%
TOTAL GASTOS OPERACIONALES		**1,953,817,085**	**877,276,805**	**1,076,540,279**	**123%**
UTILIDAD OPERACIONAL		**386,965,095**	**397,478,679**	**(10,513,584)**	**-3%**
INGRESOS NO OPERACIONALES					
OTROS INGRESOS NO OPERACIONALES	21	286,745,102	22,907,928	263,837,174	1152%
TOTAL INGRESOS NO OPERACIONALES		**286,745,102**	**22,907,928**	**263,837,174**	**1152%**
OTROS GASTOS					
OTROS GASTOS	22	225,875,704	102,266,401	123,609,303	121%
TOTAL OTROS GASTOS		**225,875,704**	**102,266,401**	**123,609,303**	**121%**
UTILIDAD NO OPERACIONAL		**60,869,398**	**(79,358,472)**	**140,227,870**	**-177%**
RESULTADO DEL EJERCICIO ANTES DE IMPUESTOS		**447,834,494**	**318,120,207**	**129,714,286**	**41%**
PROVISION IMPUESTO DE RENTA		**164,000,000**	**150,270,000**	**13,730,000**	**9%**
RESULTADO DEL EJERCICIO		**283,834,494**	**167,850,207**	**115,984,286**	**69%**
OTRO RESULTADO INTEGRAL NIIF					
INGRESOS NIIF		94,300,810	75,387,640	18,913,170	25%
GASTOS NIIF		2,013,192	-	2,013,192	0%
GASTOS IMPUESTO DIFERIDO		**9,228,762**	**7,538,764**	**1,689,998**	**0%**
RESULTADO DEL EJERCICIO NIIF		**83,058,856**	**67,848,876**	**15,209,980**	**22%**
RESULTADO NETO DEL EJERCICIO	23	**366,893,350**	**235,699,083**	**131,194,267**	**56%**

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
Gerente

GLORIA MARIA DIAZ ORTIZ
Contador
T.P No. 126359-T

CLAUDIA PATRICIA VILLAVECES MURILLO
Revisor Fiscal
T.P. No. 61916-T

INMUNOTECH

INMUNOTECH LABORATORIES SAS
NIT. 830.141.394-2
ESTADO DE FLUJO DEL EFECTIVO AL 31 DE DICIEMBRE DE 2023 COMPARADO CON EL AÑO 2022
(Cifras expresadas en pesos colombianos)

	AÑO 2023	AÑO 2022
EN ACTIVIDADES DE OPERACIÓN:		
RESULTADO DEL EJERCICIO	283,834,494	167,850,207
TRASLADO A UTILIDADES ACUMULADAS	(167,850,207)	-
TRASLADO AL O.R.I. ACUMULADO EJER. ANT.	15,209,980	-
DEPRECIACION ACUMULADA	38,181,552	93,888,407
BENEFICIOS A LOS EMPLEADOS	12,611,267	40,764,096
PASIVO POR IMPUESTO DIFERIDO	9,228,762	7,538,764
EXCEDENTE OPERACIONAL	**191,215,847**	**310,041,474**
CAMBIOS EN ACTIVIDADES DE OPERACIÓN		
INVENTARIOS	216,866,855	(139,884,113)
CUENTAS COMERCIALES POR COBRAR Y OTRAS CXC	156,505,725	(328,561,733)
ACTIVOS NO FINANCIEROS	(93,009,192)	(192,996,097)
ACTIVOS FINANCIEROS	-	-
GASTOS PAGADOS POR ANTICIPADO	(368,586,461)	-
OTROS PASIVOS FINANCIEROS	(24,691,118)	24,691,118
CUENTAS COMERCIALES POR PAGAR Y OTRAS CXP	(17,765,570)	418,584,026
OTROS PASIVOS NO FINANCIEROS	23,079,000	(7,749,000)
PASIVOS POR IMPUESTOS CORRIENTES	13,315,000	148,273,000
CUENTAS COMERCIALES POR PAGAR NO CORRIENTES	134,114,020	(192,079,407)
TOTAL EN ACTIVIDADES DE OPERACIÓN	**39,828,259**	**(269,722,206)**
EN ACTIVIDADES DE INVERSION:		
CONSTRUCCIONES Y EDIFICACIONES	(92,287,618)	(75,387,640)
EQUIPO DE OFICINA	(17,107,900)	(12,544,367)
EQUIPOS DE COMPUTACION Y COMUNIC.	(27,385,065)	(45,935,569)
EQUIPO MEDICO Y CIENTIFICO	-	46,214,264
FLOTA Y EQUIPO DE TRANSPORTE	(155,493,334)	-
TOTAL EN ACTIVIDADES DE INVERSIÓN	**(292,273,917)**	**(87,653,312)**
EN ACTIVIDADES DE FINANCIACION		-
RESERVAS	-	-
RESULTADO DE EJERCICIOS ANTERIORES	167,850,207	221,662,847
RESULTADO DEL EJERCICIO		(221,662,848)
RESULTADO ADOPCION NIIF	67,848,876	67,848,876
TOTAL EN ACTIVIDADES DE FINANCIACION	**235,699,083**	**67,848,875**
DISMINUCION NETA EN EL DISPONIBLE	**174,469,272**	**20,514,831**
EFECTIVO Y EQUIVALENTES AL INICIO DEL PERÍODO	293,393,104	272,878,274
SALDO AL FINAL DEL PERÍODO	**467,862,376**	**293,393,104**

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
Gerente

GLORIA MARIA DIAZ ORTIZ
Contador
T.P No. 126359-T

CLAUDIA PATRICIA VILLAVECES MURILLO
Revisor Fiscal
T.P. No. 61916-T

INMUNOTECH

INMUNOTECH LABORATORIES SAS

NIT. 830.141.394-2

ESTADO DE CAMBIOS EN EL PATRIMONIO

(Cifras expresadas en pesos colombianos)

RUBROS	Capital Pagado	Reserva Legal	Otro Result. Integral Acum.	Otro Result. Int. pres.ejer.	Utilidad Acumulada	Resultado del ejercicio	Total Patrimonio
Saldo a Diciembre 31 de 2022:	100,000,000	285,595,899	396,806,505	67,848,876	513,783,654	167,850,207	1,531,885,141
Saldos a Diciembre 31 de 2022	**100,000,000**	**285,595,899**	**396,806,505**	**67,848,876**	**513,783,654**	**167,850,207**	**1,531,885,141**
Movimiento enero - diciembre / 2023:							
Incremento O.R.I. acumulad, año ant.			67,848,876				67,848,876
Disminución O.R.I. pres. ejerc. traslado				(67,848,876)			(67,848,876)
Traslado del resultado del ejercicio					167,850,207		167,850,207
Disminución utilidad acumulada					-		-
Traslado a utilidad acumulada ejerc. Ant.						(167,850,207)	(167,850,207)
Resultado del ejercicio				83,058,856		283,834,494	366,893,350
Saldos a 31 de diciembre de 2023	**100,000,000**	**285,595,899**	**464,655,381**	**83,058,856**	**681,633,861**	**283,834,494**	**1,898,778,491**

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
Gerente

CLAUDIA PATRICIA VILLAVECES MURILLO
Revisor Fiscal
T.P. No. 61916-T

GLORIA MARIA DIAZ ORTIZ
Contador
T.P No. 126359-T

INMUNOTECH

INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.

Notas a los Estados Financieros

31 de diciembre de 2023 (Cifras expresadas en pesos colombianos)

Nota 1 - Entidad y objeto social

INMUNOTECH LABORATIES S.A.S., es una sociedad por acciones simplificadas, identificada con el NIT No. 830.141.394-2, con matrícula mercantil No. 01380255 de la Cámara de Comercio de Bogotá, se constituyó por escritura pública No. 0002481 de fecha mayo 19 de 2004 inscrita el 27 de mayo de 2004 bajo el No. 00936268 del libro IX y la vigencia de la sociedad es indefinida, su domicilio principal se encuentra en la ciudad de Bogotá.

El objeto social de la compañía será la de Prestar servicios y asesoría completa de patología quirúrgica, fitopatología, inmunopatología, ayudas o complementos de diagnóstico en la práctica de la medicina. salud ocupacional: adelantar labores de promoción de salud para la información, formación, educación, capacitación y entrenamiento en todas las áreas, celebrar los contratos necesarios para el desarrollo de estas actividades; podrá participar en programas de investigación científica en el área de la salud, subcontratar con personas naturales o jurídicas especializadas en el área de la ejecución total o parcial de los mismos, obtener derechos de propiedad sobre marcas, dibujos, insignias, logotipos, patentes de invención, derechos de autor, obtener registros de marcas, patentes y privilegios, cederlos a cualquier título, promover y formar empresas de la misma índole, o de negocios relacionados con su objeto social y aportar a ellas toda clase de bienes. tendrá derecho a la explotación, distribución y representación de equipos médicos para laboratorios clínicos y odontológicos, su importación o exportación y en general la ejecución de todo acto lícito de comercio que se relacione directa o indirectamente con esta clase de actividades y elementos de laboratorio, reactivos de bioinvestigación; podrá tener participación o acciones en empresas de la misma índole o con fines que se relacionen directamente con su objeto principal. ejercer la representación o agencia de personas naturales o jurídicas dedicadas a las mismas actividades o aquellas que se relacionen con su objeto social: y, en general, hacerlo en cualquier parte, sea en su propio nombre o por cuenta de terceros, o en participación con ellos. En desarrollo de su objeto social. La sociedad podrá: a.- comprar. Vender, importar y exportar toda suerte de artículos, productos, subproductos e insumos relacionados directamente con el objeto social, b. - adquirir a cualquier título toda clase de bienes corporales o incorporales, muebles e inmuebles, privilegios y patentes enajenar aquellos que por cualquier causa deje de necesitar o no le convenga; hacer construcciones y montajes que sean necesarios y convenientes al desarrollo de los negocios de la sociedad. - c. - celebrar toda clase de contratos para obtener la ayuda técnica necesaria para el mejor desarrollo de sus negocios. d.- establecer agencias, sucursales o filiales técnicas o comerciales en cualquier ciudad del país o del exterior. e. - aceptar representaciones nacionales y extranjeras de productos del mismo ramo y de ramos similares o complementarios. f. suscribir acciones e interesarse en cualquier otra forma de empresas o negocios que den por resultado abrirle mercado a los productos que produzca y facilitarle su operación. g.- tomar o dar dinero en préstamo, hipotecar o gravar sus bienes inmuebles y muebles, celebrar contratos de apertura de créditos, girar, endosar, adquirir, aceptar, cobrar, prestar, cancelar o pagar cualquier clase de títulos valores o cualesquiera otros efectos de comercio o aceptarlos en pago, siempre que esté relacionados con las operaciones que forman el objeto social. h.- representar bajo forma exclusiva o no, casas o firmas nacionales y extranjeras. i.- en general, la sociedad podrá realizar cualquier actividad comercial o civil, lícita. parágrafo: prohíbase a la sociedad constituirse en garante de obligaciones de terceros, de sus accionistas y prestar caución con

los bienes sociales, para obligaciones distintas de aquellas propias de la sociedad. Así mismo, podrá realizar cualquier otra actividad económica lícita tanto en Colombia como en el extranjero.
La sociedad podrá llevar a cabo, en general, todas las operaciones, de cualquier naturaleza que ellas fueren, relacionadas con el objeto mencionado, así como cualquier actividad similar, conexa, complementaria o diferente que permitan facilitar o desarrollar el comercio o la industria de la sociedad.
La sociedad no podrá constituirse garante de obligaciones ajenas, ni cauciones con los bienes sociales obligaciones distintas a las suyas, salvo que de ello reporte un beneficio, lo cual se decidirá por unanimidad de los accionistas de la compañía.

Nota 2 - Principales políticas y prácticas contables

Bases de preparación

Los estados financieros han sido preparados de acuerdo con las Normas Internacionales de Información Financiera (NIIF) y sus correspondientes interpretaciones (CINIIF) emitidas por la International Accounting Standards Board (IASB). La normatividad NIIF aplicable en Colombia requiere la revisión del Consejo Técnico de la Contaduría Pública y la ratificación por parte de los ministerios de Hacienda y Crédito Público y de Comercio, Industria y Turismo. Con fecha 27 de mayo de 2013 el Ministerio de Comercio, Industria y Turismo emitió el Decreto 3023 aplicable a la compañía como empresa clasificada en el denominado Grupo 2, el cual incluye las NIIF actualizadas por el IASB hasta el 31 de mayo de 2012 y traducidas al idioma español en agosto de 2013, difundidas en el denominado "Libro Rojo 2013".

Los estados financieros han sido preparados sobre la base del costo histórico, excepto por ciertos instrumentos financieros que son medidos al costo amortizado o a su valor razonable, como se explica en las políticas contables descritas abajo.

En general el costo histórico está basado en el valor razonable de las transacciones. Valor razonable es el precio que sería recibido por vender un activo o pagado por transferir un pasivo en una transacción ordenada entre participantes del mercado en la fecha de la medición.

La preparación de los estados financieros de acuerdo con NIIF requiere el uso de ciertos estimados contables críticos. También requiere que la gerencia ejerza su juicio en el proceso de aplicación de las políticas contables.

Base de contabilidad de causación

La Compañía prepara sus estados financieros, excepto para la información de los flujos de efectivo, usando la base de contabilidad de causación.

Importancia relativa y materialidad

La presentación de los hechos económicos se hace de acuerdo con su importancia relativa o materialidad.

Para efectos de revelación, una transacción, hecho u operación es material cuando, debido a su cuantía o naturaleza, su conocimiento o desconocimiento, considerando las circunstancias que lo rodean, incide en las decisiones que puedan tomar o en las evaluaciones que puedan realizar los usuarios de la información contable.

En la preparación y presentación de los estados financieros, la materialidad de la cuantía se determinó con relación, entre otros, al activo total, al activo corriente y no corriente, al pasivo total, al pasivo corriente y no corriente, al patrimonio o a los resultados del ejercicio, según corresponda.

En términos generales, se considera como material toda partida que supere el 5% con respecto a un determinado total de los anteriormente citados.

Efectivo y equivalentes de efectivo

El efectivo y equivalentes de efectivo incluyen el efectivo disponible, depósitos de libre disponibilidad en bancos, y sobregiros bancarios. Los sobregiros bancarios se presentan en la cuenta obligaciones financieros corrientes en el estado de situación financiera.

Activos financieros

La Empresa clasifica sus activos financieros en las siguientes categorías: Activos financieros a valor razonable a través de resultados, préstamos y cuentas por cobrar medidos al costo amortizado, y disponibles para la venta.

La clasificación depende del propósito para el cual se adquirieron los activos financieros. La Gerencia determina la clasificación de sus activos financieros a la fecha de su reconocimiento inicial.

(a) Activos financieros a valor razonable a través de resultados:

Los activos financieros a valor razonable a través de resultados son activos que se mantienen para ser negociados. Un activo financiero se clasifica en esta categoría si es adquirido principalmente para efectos de ser vendido en el corto plazo.

Subsecuentemente al reconocimiento inicial, estos instrumentos son reclasificados a la categoría de costo amortizado si el objetivo del modelo de negocio cambia de tal forma que el criterio de costo amortizado comienza a ser reunido y los flujos de caja contractuales del instrumento reúnen los criterios de costo amortizado. La reclasificación de instrumentos de deuda designados como al valor razonable a través de resultados en el reconocimiento inicial no es permitida.

(b) Préstamos y cuentas por cobrar medidos al costo amortizado:

Los préstamos y las cuentas por cobrar son activos financieros no derivados que dan derecho a pagos fijos o determinables y que no cotizan en un mercado activo. Se incluyen en el activo corriente, excepto por los de vencimiento mayor a 12 meses contados desde la fecha del estado de situación financiera. Estos últimos se clasifican como activos no corrientes.

(c) Activos financieros disponibles para la venta:

Los activos financieros disponibles para la venta son activos financieros no derivados que se designan en esta categoría o que no clasifican para ser designados en ninguna de las otras categorías. Estos activos se muestran como activos no corrientes a menos que la Gerencia tenga intención expresa de vender el activo dentro de los 12 meses contados a partir de la fecha del estado de situación financiera.

Reconocimiento y medición. Las compras y ventas normales de activos financieros se reconocen a la fecha de la liquidación, fecha en la que se realiza la compra o venta del activo. Las inversiones se reconocen inicialmente a su valor razonable más los costos de transacción en el caso de todos los activos financieros que no se registran a valor razonable a través de resultados. Los activos financieros que se reconocen a valor razonable a través de resultados se reconocen inicialmente a valor razonable y los costos de transacción se reconocen como gasto en el estado de resultado del período y otro resultado integral.

Las inversiones se dejan de reconocer cuando los derechos a recibir flujos de efectivo de las inversiones expiran o se transfieren y se ha transferido sustancialmente todos los riesgos y beneficios

derivados de su propiedad. Los activos financieros disponibles para la venta y a valor razonable a través de ganancias o pérdidas se registran posteriormente a su valor razonable con efecto en resultados. Los préstamos y las cuentas por cobrar se registran a su costo amortizado por el método de tasa de interés efectivo.

El método de tasa de interés efectivo es un mecanismo de cálculo del costo amortizado de un instrumento de deuda y de la asignación de los ingresos por intereses durante el período relevante. La tasa de interés efectiva es la tasa que descuenta exactamente los flujos de efectivo futuros (incluyendo todos los honorarios y puntos pagados o recibidos que forman parte integrante de la tasa, los costos de transacción y otras primas o descuentos) a través de la vida esperada del instrumento de deuda, o, en su caso, un período más corto, con el valor neto contable en el reconocimiento inicial.

Las cuentas por cobrar comerciales se reconocen inicialmente a su valor razonable y subsecuentemente se valoran a su costo amortizado, usando el método de interés efectivo, menos el deterioro.

Las ganancias y pérdidas que surgen de cambios en el valor razonable de "activos financieros a valor razonable a través de resultados" se incluyen en el estado del resultado del período y otro resultado integral en el rubro "otros ingresos/otros egresos", en el período en el que se producen los referidos cambios en el valor razonable.

Los valores razonables de las inversiones con cotización bursátil se basan en su precio de cotización vigente.

Si el mercado para un instrumento financiero no es activo (o el instrumento no cotiza en bolsa) se establece su valor razonable usando técnicas de valuación.

Estas técnicas incluyen el uso de los valores observados en transacciones recientes efectuadas bajo los términos de libre competencia, la referencia a otros instrumentos que son sustancialmente los mismos, análisis de flujos de efectivo descontados y modelos de opción de fijación de precios haciendo máximo uso de información de mercado y depositando el menor grado de confianza posible en información interna específica de la entidad.

Se evalúa a cada fecha del estado de situación financiera si existe evidencia objetiva de la desvalorización o deterioro en el valor de un activo financiero o de un grupo de activos financieros.

Deterioro de activos financieros

(a) Activos a costo amortizado:

La Compañía evalúa al final de cada período, si existe evidencia objetiva de que un activo financiero o grupo de activos financieros está deteriorado.

Un activo financiero o un grupo de activos financieros está deteriorado sólo si existe evidencia objetiva del deterioro como resultado de uno o más eventos que ocurrieron después del reconocimiento inicial del activo (un evento de pérdida) y que el evento de pérdida, (o eventos), tiene un impacto en los flujos de efectivo futuros estimados del activo financiero o grupo de activos financieros que pueden estimarse de forma fiable.

Los criterios que se utilizan para determinar que existe una evidencia objetiva de una pérdida por deterioro son:

- Dificultades financieras significativas del emisor o del obligado.

- Un incumplimiento del contrato, tales como no pagos o retrasos en el interés o del pago principal.
- La Compañía, por razones económicas o legales relacionadas con dificultades financieras del prestatario, le dé al prestatario una concesión que de otro modo no hubiera considerado.
- Resulta probable que el prestatario entre en quiebra o en saneamiento financiero.
- La desaparición de un mercado activo para el activo financiero debido a dificultades financieras, o
- Los datos observables indican que existe una disminución significativa en los flujos de efectivo futuros estimados a partir de una cartera de activos financieros desde el reconocimiento inicial de estos activos, aunque la disminución aún no se puede identificar con los activos financieros individuales de la cartera, incluyendo: Cambios adversos en el estado de pago de los prestatarios de la cartera, y condiciones económicas locales o nacionales que se correlacionan con no pago en los activos de la cartera.

La compañía primero evalúa si existe evidencia objetiva de deterioro en forma individual, en caso contrario realiza análisis generales o globales en busca de deterioro.

Para los préstamos y la categoría de cuentas por cobrar, el importe de la pérdida se mide como la diferencia entre el valor en libros del activo y el valor presente de los flujos de efectivo futuros (excluyendo las pérdidas crediticias futuras que no han sido contraídas) descontando a la tasa de interés efectiva original del activo financiero.

El valor en libros del activo se reduce y la cantidad de la pérdida se reconoce en la cuenta de resultados. Si un préstamo o inversión mantenida hasta el vencimiento tiene una tasa de interés variable, la tasa de descuento para valorar cualquier pérdida por deterioro, es el tipo de interés efectivo actual determinado en el contrato. Si, en un periodo posterior, el importe de la pérdida por deterioro disminuye y la disminución pudiera ser objetivamente relacionada con un evento ocurrido después de que el deterioro fue reconocido (por ejemplo, una mejora en la calificación crediticia del deudor), la reversión de la pérdida por deterioro se reconoce en resultados.

(b) Los Activos Financieros clasificados como disponibles para la venta:

La compañía evalúa al final de cada período, si existe evidencia objetiva de que un activo financiero o un grupo de activos financieros están deteriorados. Para los títulos de deuda, la compañía utiliza los criterios referidos en el literal (a) anterior. En el caso de las inversiones patrimoniales clasificadas como disponibles para la venta, un descenso significativo o prolongado en el valor razonable del título por debajo de su costo también es evidencia de que los activos están deteriorados. Si tal evidencia existe para los activos financieros disponibles para la venta, la pérdida acumulada (medida como la diferencia entre el costo de adquisición y el valor razonable actual, menos cualquier pérdida por deterioro de ese activo financiero) se retira del patrimonio y es reconocida en resultados.

Si, en un período posterior, el valor razonable de un instrumento de deuda clasificado como disponible para la venta aumenta y este incremento puede ser objetivamente relacionado con un evento ocurrido después de la pérdida por deterioro que fue reconocida en resultados, la pérdida por deterioro se revierte a través del mismo estado de resultado del período y otro resultado integral.

El deterioro de las cuentas por cobrar comerciales se establece cuando existe evidencia objetiva de que no se podrá cobrar todos los montos vencidos, de acuerdo con los términos originales de las cuentas por cobrar. Algunos indicadores de posible deterioro de las cuentas por cobrar son dificultades financieras del deudor, la probabilidad de que el deudor vaya a iniciar un proceso de bancarrota o de reorganización financiera y el incumplimiento o falta de pago. El monto del deterioro es la diferencia entre el valor en libros del activo y el valor presente del estimado de flujos de efectivo futuros, que se obtendrán de la cuenta, descontados a la tasa de interés efectiva.

El valor en libros del activo se reduce por medio de una cuenta correctora y el monto de la pérdida se reconoce con cargo al estado de resultado del período y otro resultado integral en el rubro "gastos de venta".

Cuando una cuenta por cobrar se considera incobrable, se castiga contra la respectiva cuenta de deterioro. La recuperación posterior de montos previamente castigados se reconoce con crédito a la cuenta "recuperaciones" en el estado de resultado del período.

Inventarios

Las existencias se registran al costo o a su valor neto de realización el que resulte menor.

El costo se determina usando el método de promedio ponderado, el valor neto de realización es el valor de uso estimado en el curso normal de las operaciones.

El costo de los productos terminados y en curso incluye los costos de materias primas, mano de obra directa, otros costos directos y gastos generales de producción relacionados (basados en una capacidad operativa normal), y no incluye costos por intereses. El valor neto realizable es el precio de venta estimado en el curso ordinario del negocio, menos los gastos variables de venta aplicables.

Propiedades, planta y equipo

Las propiedades, planta y equipo se presentan a su costo histórico, menos la depreciación subsiguiente y las perdidas por deterioro, en caso de que existan. Comprenden terrenos y edificios relacionados principalmente con fábricas, tiendas y oficinas, maquinaria, vehículos, muebles y enseres, equipo de oficina, y equipos de comunicación y cómputo.

El costo histórico incluye los desembolsos directamente atribuibles a la adquisición de estas partidas. El costo también incluye los costos de endeudamiento incurridos durante la etapa de construcción de proyectos que requieren un tiempo sustancial para su puesta en operación.

Las propiedades en el curso de construcción para fines de producción, suministro o administrativos se contabilizan al costo, menos cualquier pérdida por deterioro reconocida. El costo incluye para los activos calificados, los costos por préstamos capitalizados bajo el método de la tasa de interés efectiva. Estas propiedades se clasifican en las categorías de propiedades, planta y equipo cuando estén terminadas y listas para uso previsto.

Los costos subsecuentes se incluyen en el valor en libros del activo o se reconocen como un activo separado, según corresponda, sólo cuando es probable que genere beneficios económicos futuros y el costo de estos activos se pueda medir razonablemente. Los gastos de mantenimiento y de reparación se cargan al estado de resultado del período y otro resultado integral en el período en que estos se incurren.

La depreciación de estos activos comienza cuando los activos están listos para su uso previsto.

Los terrenos no se deprecian. La depreciación de otros activos se calcula utilizando el método de línea recta para asignar su costo hasta su valor residual durante el estimado de su vida útil como sigue:

Clase de activo	Vida útil en año
Construcciones y edificaciones	20-100
Maquinaria y Equipo	10-35
Equipo de oficina	10
Equipo de comunicación y computación	5
Equipo de transporte	5-10

Los valores residuales y la vida útil de los activos se revisan y ajustan, de ser necesario, a la fecha de cada estado de situación financiera.

El valor en libros de un activo se castiga inmediatamente a su valor recuperable, si el valor en libros del activo es mayor que el estimado de su valor recuperable.

Un elemento de propiedades, planta y equipo se da de baja por su disposición o cuando no se esperan beneficios económicos futuros que deriven del uso continuo del activo.

Las ganancias y pérdidas por la venta de activos corresponden a la diferencia entre los ingresos de la transacción y el valor en libros de los activos. Estas se incluyen en el estado de resultado del período y otro resultado integral.

Las propiedades, planta y equipo, en régimen de arrendamiento financiero se deprecian de la misma manera que los activos propios, si se tiene certeza razonable de obtener la propiedad al término del plazo del arrendamiento, el activo se depreciará a lo largo de su vida útil esperada, en caso contrario se depre ciará en el término del arrendamiento el que sea menor.

Operaciones de financiamiento

Los préstamos se reconocen inicialmente a su valor razonable, neto de los costos incurridos en la transacción.

Posteriormente se registran a su costo amortizado. Cualquier diferencia entre los fondos recibidos (neto de los costos de la transacción) y el valor de redención, se reconoce en el estado de resultado del período y otro resultado integral durante el período del préstamo, usando el método de interés efectivo.

El método del interés efectivo es un mecanismo de cálculo del costo amortizado de un pasivo financiero y de asignación de gasto por intereses durante el período relevante. La tasa de interés efectiva es la tasa que descuenta exactamente los futuros pagos de efectivo (incluyendo todas las comisiones y puntos básicos pagados o recibidos que forman parte integrante de la tasa de interés efectiva, los costos de transacción y otras primas o descuentos) a través de la vida esperada de la obligación, o (si procede) un período más corto.

Los honorarios incurridos para obtener los préstamos se reconocen como costos de la transacción en la medida que sea probable que una parte o todo el préstamo se recibirán. En este caso los honorarios se difieren hasta que el préstamo se reciba.

Los préstamos se clasifican en el pasivo corriente a menos que se tenga derecho incondicional de diferir el pago de la obligación por lo menos 12 meses contados desde la fecha del balance.

La Compañía da de baja los pasivos financieros cuando, y sólo cuando, las obligaciones se liquidan, cancela o expiran. La diferencia entre el valor en libros del pasivo financiero dado de baja y la contraprestación pagada y por pagar se reconocerá en el resultado.

INMUNOTECH

Cuentas por pagar comerciales

Las cuentas por pagar comerciales son obligaciones de pago por bienes o servicios que se han adquirido de los proveedores en el curso ordinario de los negocios. Las cuentas por pagar se clasifican como pasivos corrientes, si el pago debe ser efectuado en un período de un año o menos. Si el pago debe ser efectuado en un período superior a un año se presentan como pasivos no corrientes.

Impuesto a la renta corriente y diferidos

El gasto por impuesto a la renta del período comprende el impuesto a la renta corriente e impuesto diferido. El impuesto diferido se reconoce en el resultado del período, excepto cuando se trata de partidas que se reconocen en el patrimonio u otro resultado integral. En estos casos, el impuesto también se reconoce en el patrimonio o en el resultado integral respectivamente.

El cargo por impuesto a la renta corriente se calcula sobre la base de las leyes tributarias promulgadas o sustancialmente promulgadas a la fecha del estado de situación financiera. La gerencia evalúa periódicamente la posición asumida en las declaraciones de impuesto, respecto de situaciones en las que las leyes tributarias son objeto de interpretación.

La Compañía, cuando corresponde, constituye provisiones sobre los montos que espera deberá pagar a las autoridades tributarias.

El impuesto de renta diferidos se provisiona de su totalidad por el método del pasivo, sobre las diferencias temporarias que surgen entre las bases tributarias de activos y pasivos y sus respectivos mostrados en los estados financieros. El impuesto de renta diferido se determina usando tasas tributarias (y legislación) que han sido promulgadas a la fecha del estado de situación financiera y que se espera serán aplicables cuando el impuesto a la renta diferido activo se realice o cuando el impuesto a la renta pasivo se pague.

Los impuestos a renta diferidos activos sólo se reconocen en la medida que sea probable que se produzcan beneficios tributarios futuros contra los que se puedan usan las diferencias temporarias.

Los impuestos diferidos activos y pasivos se compensan cuando existen derecho legalmente ejecutable de compensar los activos tributarios corriente contra los pasivos tributarios corrientes y cuando los impuestos a la renta diferidos activos y pasivos están relacionados con el impuesto a la renta que grava la misma autoridad tributaria.

Beneficios a empleados

Los beneficios a los empleados comprenden todos los tipos de retribuciones que INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S. proporciona a los colaboradores a cambio de la prestación de sus servicios.

Beneficios de corto plazo:

Son aquellos beneficios otorgados a los trabajadores y empleados actuales pagaderos en un plazo no mayor a doce (12) meses siguientes al cierre del periodo en el que se ha generado la obligación o prestado el servicio.

Son considerados beneficios de corto plazo los siguientes: salarios, auxilio de transporte, aportes al sistema de seguridad social, incapacidades, licencias remuneradas y prestaciones sociales. También forman parte de este grupo los beneficios que no están regulados por el Código Sustantivo del Trabajo como bonos por cumplimiento de metas, bonificación por cumplimiento de metas gerenciales, auxilio educativo, aguinaldo, capacitaciones, entre otros.

INMUNOTECH

Beneficios a largo plazo:

Son retribuciones a los empleados (diferentes de los beneficios post empleo y de los beneficios por terminación) cuyo pago no vence dentro de los doce (12) meses siguientes al cierre del periodo en el cual los empleados han prestado sus servicios.

Beneficios por terminación:

Son las remuneraciones por pagar a los empleados como consecuencia de: i) la decisión de INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S. de resolver el contrato del empleado antes de la edad normal de retiro; o bien ii) la decisión del empleado de aceptar voluntariamente la conclusión de la relación de trabajo a cambio de tales beneficios.

Ingresos

(a) Ingresos – Venta nacionales

Los ingresos comprenden el valor razonable de lo cobrado o por cobrar por la venta de bienes neto de descuentos y devoluciones en el curso normal de las operaciones. La Compañía reconoce los ingresos cuando su importe se puede medir confiablemente, es probable que beneficios económicos fluyan a la entidad en el futuro y la transacción cumple con criterios específicos por cada una de las actividades.

Las condiciones de pago son 30 y 60 días para las ventas.

Los ingresos deben ser reconocidos en el mes en que fueron entregadas las mercancías.

Cuando el valor de una cuenta por cobrar se deteriora, se reduce su valor en libros a su monto recuperable, el mismo que es el flujo de efectivo futuro estimado descontado a la tasa de interés efectiva original del instrumento.

(b) Dividendos

Los ingresos por dividendos se reconocen cuando se establece el derecho a recibir el pago.

Reconocimiento de costos y gastos

La Empresa reconoce sus costos y gastos en la medida en que ocurran los hechos económicos de tal forma que queden registrados sistemáticamente en el período contable correspondiente (causación), independiente del flujo de recursos monetarios o financieros (caja).

Se incluyen dentro de los costos las erogaciones causadas a favor de empleados o terceros directamente relacionados con la venta. También se incluyen aquellos costos que, aunque no estén directamente relacionados con la venta, son un elemento esencial en ellos.

Capital Suscrito y pagado

El capital suscrito y pagado corresponde a 100 acciones de valor nominal de $1.000.000 c/u para un total de $100.000.000

INMUNOTECH

REVELACIONES

Nota 3 - Efectivo y Equivalente al efectivo.

El efectivo y equivalentes de efectivo representa el saldo en caja y bancos con corte al cierre del ejercicio, comparado con el año anterior.

EFECTIVO Y EQUIVALENTE AL EFECTIVO	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
CAJA	4,775,837	-	4,775,837	0%
BANCOS	463,086,539	293,393,104	169,693,435	58%
Total	**467,862,376**	**293,393,104**	**174,469,272**	59%

Nota 4 – Activos Financieros

Corresponde a los documentos o títulos emitidos por entidades financieras y que se encuentran a la espera de un rendimiento.

ACTIVOS FINANCIEROS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
INVERSIONES -CDT	120,000,000	120,000,000	-	0%
Total	**120,000,000**	**120,000,000**	-	0%

Nota 5 - Cuentas comerciales por cobrar

Corresponden a los deudores a favor de la compañía que están soportadas con las facturas emitidas o documentos idóneos que justifican cada uno de los saldos y no existe ninguna restricción para su recuperación y cobro.

CUENTAS COMERCIALES POR COBRAR	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
CLIENTES	416,331,206	559,423,154	(143,091,948)	-26%
CUENTAS POR COBRAR A SOCIOS	13,145,436	1,316,114	11,829,322	899%
ANTICIPOS Y AVANCES	43,276,014	67,469,113	(24,193,099)	-36%
CUENTAS POR COBRAR A TRABAJADORES	300,000	1,350,000	(1,050,000)	-78%
Total	**473,052,657**	**629,558,381**	**(156,505,725)**	-25%

Nota 6 – Activos no financieros

Los activos no financieros corresponden a saldos a favor de la compañía y retenciones en la fuente a título de anticipos de impuestos nacionales y jurisdiccionales, los cuales se van a cruzar o descontar de tributos, una vez se presenten las declaraciones tributarias.

ACTIVOS NO FINANCIEROS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
ANTICIPO DE IMPUESTOS (Retenciones)	226,777,806	189,803,339	36,974,467	19%
SALDO A FAVOR EN RENTA	275,035,000	209,061,000	65,974,000	32%
SALDO A FAVOR EN ICA	541,459	541,459	-	0%
SALDO A FAVOR EN IVA	-	10,378,000	(10,378,000)	-100%
DESCUENTOS TRIBUTARIOS	438,725	-	438,725	0%
Total	**502,792,990**	**409,783,798**	**93,009,192**	23%

INMUNOTECH

Nota 7 – Inventarios

El valor de los inventarios corresponde a materiales reactivos, de laboratorio y kits al cierre del periodo.

INVENTARIOS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
INVENTARIOS	90,109,067	306,975,922	(216,866,855)	-71%
Total	**90,109,067**	**306,975,922**	**(216,866,855)**	-71%

Nota 8- Propiedades, Planta y Equipo

La propiedad, planta y equipo se encuentra dispuesta de la siguiente manera:

PROPIEDAD PLANTA Y EQUIPO	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
CONSTRUCCIONES Y EDIFICACIONES	552,740,930	552,740,930	-	0%
CONSTRUCCIONES Y EDIFICACIONES -(Reconoc. NIIF)	608,571,375	516,283,757	92,287,618	18%
EQUIPO DE OFICINA	125,326,640	108,218,740	17,107,900	16%
EQUIPOS DE COMPUTACION Y COMUNIC.	197,391,855	170,006,790	27,385,065	16%
EQUIPO MEDICO Y CIENTIFICO	48,568,252	48,568,252	-	0%
FLOTA Y EQUIPO DE TRANSPORTE	832,462,139	676,968,805	155,493,334	23%
DEPRECIACION ACUMULADA	(646,779,073)	(608,597,521)	(38,181,552)	6%
Total	**1,718,282,117**	**1,464,189,752**	**254,092,365**	17.4%

Nota 9- Diferidos

Corresponde a valores de las compras de insumos para uso por parte del laboratorio.

DIFERIDOS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
GASTOS PAGADOS POR ANTICIPADO	368,586,461	-	368,586,461	0%
Total	**368,586,461**	-	**368,586,461**	0%

Nota 10- Otros Pasivos Financieros

Corresponde al saldo de las obligaciones financieras al cierre del ejercicio.

OTROS PASIVO FINANCIEROS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
BANCOS NACIONALES	-	24,691,118	(24,691,118)	-100%
Total	-	**24,691,118**	**(24,691,118)**	-100%

Nota 11 - Cuentas comerciales por pagar- corrientes

Las cuentas comerciales por pagar corresponden a las obligaciones con los proveedores, con terceros y las obligaciones por la seguridad social con cada una de las entidades del sistema:

CUENTAS COMERCIALES POR PAGAR	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
PROVEEDORES	499,861,423	505,971,275	(6,109,852)	-1%
CUENTAS POR PAGAR A PARTICULARES	445,742,485	458,110,700	(12,368,215)	-3%
RETENCION Y APORTES DE NOMINA	7,034,500	6,028,400	1,006,100	17%
ANTICIPOS Y AVANCES DE CLIENTES	3,519,664	4,540,567	(1,020,903)	-22%
ACREEDORES VARIOS	7,251,000	6,523,700	727,300	11%
Total	**963,409,072**	**981,174,642**	**(17,765,570)**	-2%

INMUNOTECH

Nota 12 – Otros Pasivos No Financieros

Representa las obligaciones por retenciones en el fuente, ICA e IVA por pagar:

OTROS PASIVOS NO FINANCIEROS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
RETENCION EN LA FUENTE	24,075,000	5,232,000	18,843,000	360%
RETENCION DE ICA	5,157,000	2,430,000	2,727,000	112%
IVA POR PAGAR	1,509,000	-	1,509,000	0%
Total	**30,741,000**	**7,662,000**	**23,079,000**	301%

Nota 13 – Impuestos Corrientes Por Pagar

Los saldos que componen este rubro hacen referencia al ICA y el impuesto de renta del año 2022

IMPUESTOS CORRIENTES POR PAGAR	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
ICA POR PAGAR	3,667,000	4,082,000	(415,000)	-10%
IMPUESTO DE RENTA	164,000,000	150,270,000	13,730,000	9%
Total	**167,667,000**	**154,352,000**	**13,315,000**	9%

Nota 14 - Beneficio a los Empleados

Los saldos de las cuentas que hacen parte de este rubro corresponden a la consolidación de las prestaciones sociales al cierre del ejercicio.

BENEFICIOS A LOS EMPLEADOS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
SALARIOS POR PAGAR	857,223	20,828,115	(19,970,892)	-96%
CESANTIAS POR PAGAR	46,984,928	34,153,162	12,831,766	38%
INTERESES SOBRE LAS CESANTIAS	5,458,661	3,949,766	1,508,895	38%
VACACIONES CONSOLIDADAS	52,638,532	34,397,034	18,241,498	53%
Total	**105,939,344**	**93,328,077**	**12,611,267**	14%

Nota 15 - Cuentas comerciales por pagar y otras cuentas por pagar No corrientes

Corresponde al saldo de las obligaciones contraídas con los accionistas de la empresa.

CUENTAS COMERCIALES POR PAGAR NO CORRIENTES	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
CUENTAS POR PAGAR A ACCIONISTAS	513,293,624	379,179,605	134,114,020	35%
Total	**513,293,624**	**379,179,605**	**134,114,020**	35%

Nota 16 – Pasivo por impuesto diferido.

Dentro de esta cuenta se encuentra la provisión del impuesto diferido por reconocimiento NIIF:

PASIVO POR IMPUESTO DIFERIDO	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
IMPUESTO DIFERIDO	60,857,137	51,628,376	9,228,762	18%
Total	**60,857,137**	**51,628,376**	**9,228,762**	18%

INMUNOTECH

Nota 17 – Patrimonio

El Patrimonio corresponde al Capital suscrito y pagado, reserva legal, otro resultado integral por adopción de NIIF, resultado de ejercicios anteriores después de reserva legal y el resultado del ejercicio.

PATRIMONIO	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
CAPITAL PAGADO	100,000,000	100,000,000	-	0%
RESERVAS	285,595,899	285,595,899	-	0%
OTROS RESULTADO INTEGRAL NIIF EJERC. ANT.	464,655,381	396,806,505	67,848,876	17%
OTROS RESULTADO INTEGRAL NIIF PRES. EJERCICIO	83,058,856	67,848,876	15,209,980	22%
RESULTADO DE EJERCICIOS ANTERIORES	681,633,861	513,783,654	167,850,207	33%
RESULTADO DEL EJERCICIO	283,834,494	167,850,207	115,984,286	69%
Total	**1,898,778,491**	**1,531,885,141**	**366,893,350**	24%

Nota 18 - Ingresos Operacionales

Corresponde al servicio de laboratorio de patología y a la venta de materiales reactivos y de laboratorio.

INGRESOS POR ACTIVIDADES ORDINARIAS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
VENTAS NACIONALES	5,618,901,259	4,384,573,201	1,234,328,058	28%
DEVOLUCIONES EN VENTAS	(607,035,757)	(441,885,041)	(165,150,716)	37%
Total	**5,011,865,501**	**3,942,688,160**	**1,069,177,341**	27%

Nota 19 - Costo de Venta

Los costos de ventas corresponden a la compra de materiales reactivos y de laboratorio:

COSTO DE VENTAS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
COMPRAS	1,838,039,076	1,977,237,958	(139,198,883)	-7%
GASTOS DE PERSONAL	833,044,246	690,694,717	142,349,529	21%
Total Costo de venta	**2,671,083,322**	**2,667,932,675**	**3,150,646**	0%

Nota 20 - Gastos de Administración

Corresponde a los gastos en los que se incurren durante el año para el desarrollo del objeto social.

GASTOS DE ADMINISTRACION	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
HONORARIOS	507,607,846	165,760,601	341,847,245	206%
IMPUESTOS	270,906,888	121,537,094	149,369,794	123%
ARRENDAMIENTOS	39,751,565	35,314,373	4,437,192	13%
SEGUROS	33,148,772	20,529,787	12,618,985	61%
SERVICIOS	215,875,986	175,752,844	40,123,142	23%
GASTOS LEGALES	16,261,975	16,267,745	(5,770)	0%
MANTENIMIENTO Y REPARACIONES	261,554,464	77,091,812	184,462,652	239%
GASTOS DE VIAJE	216,212,168	47,110,294	169,101,873	359%
ADECUACION E INSTALACION	770,000	480,000	290,000	60%
DEPRECIACION	144,597,302	130,089,580	14,507,722	11%
AMORTIZACIONES	-	-	-	0%
GASTOS DIVERSOS	247,130,119	87,342,675	159,787,444	183%
Total	**1,953,817,085**	**877,276,805**	**1,076,540,279**	123%

INMUNOTECH

Nota 21 – Ingresos no operacionales

Corresponde a los ingresos percibidos por conceptos diferentes a los obtenidos en el desarrollo del objeto social.

OTROS INGRESOS NO OPERACIONALES	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
INGRESOS FINANCIEROS	26,081,213	9,300,441	16,780,773	180%
UTILIDAD EN VENTA DE PROPIEDADES PLANTA Y EQ	231,800,000	-	231,800,000	0%
INDEMNIZACIONES	847,421	-	847,421	0%
INGRESOS DIVERSOS	752,807	10,177,592	(9,424,786)	-93%
INGRESOS DE EJERCICIOS ANTERIORES	-	3,399,463	(3,399,463)	-100%
RECUPERACIONES	27,263,661	30,433	27,233,229	89487%
Total	**286,745,102**	**22,907,928**	**263,837,174**	1152%

Nota 22 – Otros Gastos

Corresponde a los gastos financieros al cierre del ejercicio.

OTROS GASTOS	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
FINANCIEROS Y OTROS	50,014,173	68,861,471	(18,847,298)	-27%
PERDIDA EN VENTA Y RETIRO DE BIENES	143,484,250	10,013,091	133,471,159	1333%
GASTOS EXTRAORDINARIOS	19,400,597	20,773,018	(1,372,421)	-7%
GASTOS DIVERSOS	12,976,684	2,618,820	10,357,864	396%
Total	**225,875,704**	**102,266,401**	**123,609,303**	121%

Nota 23 - Resultado del Ejercicio

El resultado del ejercicio se determina de la siguiente manera:

RESULTADO DEL EJERCICIO	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
INGRESOS OPERAC. Y NO OPERAC.	5,298,610,604	3,965,596,088	1,333,014,515	34%
COSTO DE VENTAS	2,671,083,322	2,667,932,675	3,150,646	0%
GASTOS DE ADMINISTRACION	1,953,817,085	877,276,805	1,076,540,279	123%
GASTOS NO OPERACIONALES	225,875,704	102,266,401	123,609,303	121%
RESULTADO ANTES DE IMPUESTO	447,834,494	318,120,207	129,714,286	41%
PROVISION IMPUESTO DE RENTA	164,000,000	150,270,000	13,730,000	9%
RESULTADO OPERACIONAL DESPUES DE IMPUESTO	**283,834,494**	**167,850,207**	**115,984,286**	69%

OTRO RESULTADO INTEGRAL	Año 2023	Año 2022	Diferencia	%
INGRESOS RECONOCIMIENTO NIIF	94,300,810	75,387,640	18,913,170	25%
GASTOS RECONOCIMIENTO NIIF	2,013,192	-	2,013,192	
GASTOS POR IMPUESTO DIFERIDO	9,228,762	7,538,764	1,689,998	22%
OTRO RESULTADO INTEGRAL NIIF	**83,058,856**	**67,848,876**	**19,236,365**	28%

TOTAL RESULTADO DEL EJERCICIO	**366,893,350**	**235,699,083**	**(17,546,367)**	-7%

Nota 24 - Negocio en Marcha

De acuerdo con lo confirmado por la Organización Mundial de la Salud, en marzo de 2020, mediante comunicado en el que oficialmente se considera el brote del COVID-19 (Coronavirus) como una pandemia, el gobierno colombiano ha venido tomando una serie de medidas socioeconómicas, con el fin de contener el virus.

Si bien los efectos finales de la pandemia de COVID-19 aún son inciertos y de acuerdo con las necesidades en el futuro, INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S. podrá continuar como un negocio en marcha en un periodo superior a 12 meses posteriores a la emisión de estos estados financieros.

Estos estados financieros han sido preparados sobre una base de negocio en marcha y no incluyen ningún ajuste a los valores en libros y clasificación de activos, pasivos y gastos reportados que de otra

manera podrían ser requeridos si la base de negocio en marcha no fuera apropiada. Adicional a lo anterior, somos conscientes de la importancia de mantener la solidez financiera y la liquidez necesaria para atender las necesidades del negocio en el momento actual, al respecto, creemos que la dinámica que trae las operaciones, así como la estrategia financiera que ha seguido la compañía a lo largo de varios periodos, con relación a la optimización de los recursos y las decisiones de asignación de capital, nos ubican en una posición adecuada.

Nota 25 – Hechos posteriores

La administración no tiene conocimiento de hechos posteriores al 31 de diciembre de 2023 y hasta la fecha de emisión de los presentes estados financieros, que lo pudiesen afectar significativamente.

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
Representante Legal

GLORIA MARIA DIAZ ORTIZ
Contador
T.P. 126359-T

CLAUDIA PATRICIA VILLAVECES MURILLO
Revisor Fiscal
T.P. No. 61916-T

11. REQUISITO HABILITANTE DE ORDEN TÉCNICO

INMUNOTECH

Bogotá D.C., Julio 05 de 2024

Señores
Hospital Universitario de Santander Gerencia
E. S. D.
Bucaramanga

REFERENCIA: REGISTROS SANITARIOS - PROCESO DE CONTRATACIÓN NUMERO - 02-2024 - OBJETO - **SUMINISTRO DE ANTICUERPOS PARA LA REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA DE LA ESE HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SANTANDER GRUPO A.**

Por medio de la presente damos a conocer los registros sanitarios para los productos ofertados:

ITEM	PRESENTACIÓN	DESCRIPCIÓN	DILUSIÓN / CLON	REGISTRO SANITARIO
1	1 ML	BCL-2	1:100-1:500 (124)	2017RD-0004713
2	0.5 ML	BCL-6	1:100-1:500 (GI191E/A8)	2017RD-0004713
3	0.5 ML	Ep-CAM/Epithelial Specific Antigen	1:50-1:200 (BER-EP4)	2017RD-0004572
4	0.5 ML	Cytokeratin CAM 5.2	1:25-1:100 (CAM 5.2)	2017RD-0004222
5	1 ML	Cytokeratin AE1 & AE3	1:100-1:500 (AE1 & AE3)	2017RD-0004572
6	1 ML	CD10	1:10-1:50 (56C6)	2017RD-0004713
7	1 ML	CD117, c-kit	1:100-1:500 (YR145)	2017RD-0004222
8	1 ML	CD138	1:100-1:500 (EP201)	2017RD-0004222
9	0.5 ML	CD15	1:25-1:100 (MMA)	2017RD-0004572
10	0.5 ML	CD23	1:10-1:50 (1B12)	2019RD-0005503
11	1 ML	CD3	1:100-1:500 (MQR-39)	2019RD-0005503
12	1 ML	CD30	1:50-1:200 (BER-H2)	2017RD-0004713
13	1 ML	CD34	1:50-1:200 (QBEnd/10)	2017RD-0004572
14	1 ML	CD5	1:100-1:500 (SP19)	2017RD-0004572
15	1 ML	CD56	1:100-1:500 (MRQ-42)	2017RD-0004713
16	0.5 ML	CD68	1:100-1:500 (KP-1)	2017RD-0004713
17	1 ML	CD79a	1:100-1:500 (JCB117)	2017RD-0004713
18	0.5 ML	CD99	1:100-1:500 (EPR3097Y)	2019RD-0005503
19	0.5 ML	CDX2	1:100-1:500 (EPR2764Y)	2019RD-0005700
20	1 ML	Cyclin D1	1:100-1:500 (SP4)	2017RD-0004222

IMMUNOTECH

ITEM	PRESENTACIÓN	DESCRIPCIÓN	DILUSIÓN / CLON	REGISTRO SANITARIO
21	1 ML	CK20	1:200-1:500 (KS20.8)	2017RD-0004572
22	1 ML	CK7	1:100-1:500 (OV-TL 12/30)	2017RD-0004572
23	1 ML	Chromogranin A	1:100-1:500 (LK2H10)	2017RD-0004222
24	0.5 ML	Cytokeratin (34betaE12)	1:100-1:500 (34BETAE12)	2017RD-0004222
25	0.5 ML	Desmin	1:100-1:500 (EP15)	2017RD-0004713
26	1 ML	EMA	1:100-1:500 (E29)	2019RD-0005503
27	7 ML	GATA 3	L50-823 - (70 TEST)	2017RD-0004572
28	1 ML	Ki-67	1:100-1:500 (SP6)	2017RD-0004713
29	100 ML Concentrado	KIT DE DETECCION COMPLETO (AMPLIFICADOR- POLIMERO-DIAMINOBENCIDINA)	1000 TEST	2023RD-0008149
30	CAJA X 100 UND	LAMINAS CON ADHESIÓN ESPECIAL TOMO		N.R. 2021035299
31	0.5 ML	MART-1 (Melan A)	1:100-1:500 (A103)	2017RD-0004713
32	1 ML	MUM1	1:100-1:500 (EP190)	2019RD-0005700
33	1 ML	p53	1:100-1:500 (D07)	2017RD-0004713
34	0.5 ML	PAX 8	1:50 -1:200 (MRQ-50)	2017RD-0004222
35	1 ML	Estrogen Receptor	1:100-1:500 (SP1)	2017RD-0004572
36	1 ML	Progesterone Receptor	1:100-1:500 (SP42)	2017RD-0004713
37	0.5 ML	Synaptophysin	1:100-1:500 (MRQ-40)	2017RD-0004713
38	0.5 ML	SOX-10	1:50 -1:200 (EP268)	2017RD-0004572
39	1 ML	TTF-1	1:100-1:500 (8G7G3/1)	2017RD-0004572
40	1 LT	TBS IHC WASH BUFFER + TWEEN 20X1LT	1LT:950 AGUA DESTILADA - 50 WASH BUFFER	2017RD-0004738
41	500 ML	EPITOPE SOLUTION RETRIEVAL PH6	CONCENTRADO	2020RD-0006535
42	500 ML	EPITOPE SOLUTION RETRIEVAL PH9	CONCENTRADO	2020RD-0006535
43	0.5 LT	DAB Kit 30ml DAB/500ml Buffer	CONCENTRADO	2017RD-0004572
44	1 UN	PAP PEN (MARCADOR HIDROFOBICO)	1 UND	2020RD-0006528
45	1 ML	P40	1:100 1:200 (ZR8)	2021RD-0007010
46	1 ML	P63	1:100 – 1:200 (4A4)	2021RD-0007010
47	1 ML	Her2/Neu	1:100 – 1:500 (SP3)	2017RD-0004713
48	1 ML	CD71	1:50 – 1:100 (ZM52)	2017RD-0004713

administracion@inmunotechlab.com – 457 23 77 - 311 208 1996 - Cra. 9 No. 48-40 PISO 5 Bogotá D.C.

INMUNOTECH

ITEM	PRESENTACIÓN	DESCRIPCIÓN	DILUSIÓN / CLON	REGISTRO SANITARIO
49	1 ML	CD20	1:100 -1:500 (L26)	2017RD-0004572
50	1 ML	CEA MONO	1:100 – 1:200 (CEA31)	2017RD-0004548
51	1 ML	WT-1	1:100 – 1:200 (6F-H2)	2019RD-0005441
52	1 ML	Thyroglobulin	1:100 – 1:200 (2H11+6E1)	2021RD-0006805
53	1 ML	Glypican 3	1:100 – 1:200 (1G12)	2021RD-0007010
54	1 ML	CD4	1:100 – 1:200 (ZM180)	2017RD-0004366
55	1 ML	Inhibin, alpha	1:25 -1:100 (MQR-63)	2019RD-0005700
56	1 ML	CAIX	1:100 – 1:200 (ZM41)	2021RD-0007010
57	1 ML	Anexin A1	1:100 – 1:200 (ZM211)	2017RD-0004640
58	1 ML	Beta-catenin	1:100 – 1:200 (ZM13)	2021RD-0007010
59	1 ML	CA19.9	1:100 – 1:200 (121SLE)	2019RD-0005783
60	1 ML	CD11c	1:100 – 1:200 (ZM103)	2017RD-0004513
61	1 ML	DOG-1	1:100 (DOG1.1)	2017RD-0004511
62	1 ML	Myogenin	1:100- 1:200 (F5D)	2021RD-0007010
63	1 ML	GFAP	1:25 -1:100 (EP672Y)	2019RD-0005700
64	1 ML	Neurofilament	1:50 – 1:200 (2F11)	2019RD-0005396
65	1 ML	oct-04	1:50 – 1:100 (C-10)	2019RD-0005700
66	1 ML	SOX-11	1:25 – 1:100 (MRQ-58)	2019RD-0005700
67	1 ML	ZAP-70	1:100 – 1:200 (ZM97)	2021RD-0007010
68	1 ML	SALL4	1:50 - 1:100 (EP299)	2018RD-0005050

Atentamente,

INMUNOTECH
LABORATORIES S.A.S
NIT: 830.141.394-2

SANDRA MILENA GIRALDO CANO
C.C. 1.032.377.536 de Bogoté D.C.
RL Y GERENTE GENERAL
INMUNOTECH LABORATORIES S.A.S.
TEL: 457 23 77 - 311 208 1996

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

BCL2 (124) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
226M-94	0,1 ml concentrado
226M-95	0,5 ml concentrado
226M-96	1,0 ml concentrado
226M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
226M-98	7,0 ml prediluído listo para usar
226M-90	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

El anticuerpo primario monoclonal de ratón BCL2 (124) está diseñado para utilizarse en un laboratorio para detectar la proteína BCL2 en tejidos embebidos en parafina, fijados con formalina y teñidos en pruebas de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

La familia Bcl-2 es la familia de proteínas mejor caracterizada que participa en la regulación de la muerte celular apoptótica, que consta de miembros anti-apoptotic y proapoptóticos. El Bcl-2 es un marcador útil para identificar células neoplásicas en el linfoma folicular. Pueden utilizarse anticuerpos específicos para la proteína Bcl-2 a fin de distinguir entre la proliferación folicular reactiva y neoplásica en biopsias de ganglios linfáticos.[1-4]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100–1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10

6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Citoplasmática

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	1	
Córtex adrenal	0	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	1	1	Conductos +, Acini +
Paratiroides	0	1	
Pituitaria	0	1	
Testículos	0	1	
Tiroides	1	1	
Pecho	2	2	Conductos +, lóbulos +
Bazo	1	1	
Amígdalas	3	3	
Timo	1	1	
Médula ósea	1	1	Mastocitos +
Pulmones	0	2	
Corazón	1	1	Patrón de Golgi +
Esófago	1	1	Epitelio +
Estómago	0	1	Linfocitos +
Intestino delgado	0	1	Linfocitos +

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Colon	1	1	Linfocitos +, Células epiteliales +
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	1	
Vesícula biliar	0	1	
Riñones	0	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	1	2	
Útero	0	1	
Trompas de Falopio	1	1	Epitelio +
Uréter	0	1	Urotelio +
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	1	
Músculo liso	0	1	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	Pericardium +
Grasa	0	1	
Placenta	1	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma folicular	8	8	
Linfoma del tejido linfoide asociado a las mucosas	3	3	
Linfoma esplénico de la zona marginal	3	3	
Linfoma Burkitt	0	2	
Linfoma difuso de células grandes B	0	1	
Linfoma de célula del manto	0	4	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Tsujimoto, Y. Role of Bcl-2 family proteins in apoptosis: apoptosomes or mitochondria? Genes Cells. 1998; 3:697-707.
2. Gaulard P, et al. Expression of the bcl-2 gene product in follicular lymphoma. Am J Pathol. 1992; 140: 1089-95.
3. Wang T, et al. Bcl-2 oncoprotein is widespread in lymphoid tissue and lymphomas but its differential expression in benign versus malignant follicles and monocytoid B-cell proliferations is of diagnostic value. APMIS. 1995; 103:655-62.
4. West RB, et al. The usefulness of immunohistochemistry in the diagnosis of follicular lymphoma in bone marrow biopsy specimens. Am J Clin Pathol. 2002; 117:636-43.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com
Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 14 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

BCL6 (GI191E/A8) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
227M-94	0,1 ml concentrado
227M-95	0,5 ml concentrado
227M-96	1,0 ml concentrado
227M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
227M-98	7,0 ml prediluído listo para usar
227M-90	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

BCL6 (GI191E/A8) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio en la detección de la proteína BCL6 en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina, teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

BCL6 es un gen regulador de transcripción que codifica una proteína nuclear de 706 aminoácidos que contiene zinc.[1] En el tejido normal, el anticuerpo anti-BCL6 muestra una fuerte tinción nuclear en un subconjunto de linfocitos B, localizados principalmente en los centros germinativos (GC).[2] La expresión de BCL6 suele estar presente en los linfomas foliculares,[3] linfomas difusos de células B grandes y linfomas de Burkitt.[4]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contratenirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10

5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
5. Enjuague con agua DI
6. Lave con tampón TBST (minutos): 5
7. Tiempo de incubación del amplificador de detección AP HiDef (minutos): 10
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección AP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Enjuague con agua DI
14. Tiempo de incubación de rojo permanente (minutos): 15-30
15. Enjuague con agua DI
16. Aplique contratinción con hematoxilina
17. Enjuague con agua DI
18. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Nuclear

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el

prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son

responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	0	3	
Ovarios	1	3	Estroma, débil, focal
Páncreas	0	3	
Paratiroides	0	3	
Pituitaria	1	5	neurohipófisis +
Testículos	0	3	
Tiroides	0	3	
Pecho	1	3	Conductos, lobulillos y células mioepiteliales, débil, poco frecuente
Bazo	0	3	
Amígdalas	24	25	Células del centro germinativo, moderada
Timo	0	3	
Médula ósea	0	3	
Pulmones	2	5	Bronquios, débil
Corazón	0	3	
Esófago	0	3	
Estómago	0	3	
Intestino delgado	0	3	
Colon	0	3	
Hígado	0	3	
Glándula salival	2	3	Células de los conductos, débil, poco frecuente
Riñones	0	3	
Vejiga	2	2	Urotelio, débil, disperso
Próstata	0	3	
Útero	0	3	

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Trompas de Falopio	3	3	Epitelio, débil, disperso
Uréter	2	2	Urotelio, débil, disperso
Cérvix	3	5	Epitelio escamoso débil, raro
Músculos del esqueleto	0	3	
Piel	3	3	Epidermis débil, poco frecuente; 2/2 glándulas sudoríparas, débil, poco frecuente; 1/1 glándula sebácea, débil, poco frecuente
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	0	3	
Placenta	0	3	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma folicular	24	24	
Linfoma difuso de células grandes B	10	17	
Linfoma Burkitt	6	6	
Linfoma de Hodgkin predominante nodular de linfocitos	6	6	
Linfoma de Hodgkin clásico	4	8	
Linfoma anaplásico de células grandes	1	1	
Carcinoma hepatocelular	1	1	
Leucemia/linfoma de células T adultas	0	1	
Leucemia de células pilosas	0	6	
Linfoma de célula del manto	0	7	
Linfoma de zona marginal	0	5	
linfoma linfocítico pequeño	0	5	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Falini, B et al. "Bcl-6 protein expression in normal and neoplastic lymphoid tissues." *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* vol. 8 Suppl 2 (1997): 101-4.
2. Aukema, Sietse M et al. "Double-hit B-cell lymphomas." *Blood* vol. 117,8 (2011): 2319-31.
3. Dogan, A et al. "CD10 and BCL-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas." *The American journal of surgical pathology* vol. 24,6 (2000): 846-52.
4. Carbone, Antonino et al. "B-cell lymphomas with features intermediate between distinct pathologic entities. From pathogenesis to pathology." *Human pathology* vol. 41,5 (2010): 621-31.

Limitaciones de Responsabilidad

BCL6 es protegido por el U.S. patents 6,174,997 y 6,783,945 (Cancer Genetics, Inc.)

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 30 Jun 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Ep-CAM/Epithelial Specific Antigen (Ber-EP4) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
248M-94	0,1 ml concentrado
248M-95	0,5 ml concentrado
248M-96	1,0 ml concentrado
248M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
248M-98	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

Ep-CAM/Epithelial Specific Antigen (Ber-EP4) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para el uso en la detección de la glicoproteína Ep-CAM en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina, teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

La molécula de adhesión celular epitelial (Ep-CAM) es una glicoproteína de transmembrana localizada en la membrana celular de la mayoría de tejidos epiteliales.[1] Se ha observado inmunorreactividad con el anticuerpo contra Ep-CAM en la mayoría de neoplasias epiteliales, mientras que la mayoría de neoplasias no epiteliales no muestran expresión de Ep-CAM.[2] La Ep-CAM no se expresa en células mesoteliales, hepatocitos ni linfocitos.[1,2] En combinación con otros marcadores, la Ep-CAM puede utilizarse para ayudar a determinar el origen epitelial de neoplasias, como el adenocarcinoma de pulmón.[2-4]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:50–1:200
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.° de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.° de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.° de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.° de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.° de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.° de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.° de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.° de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.° de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.° de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: Enzyme, Reactivo para la recuperación del epítopo: Protease
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10
5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: Enzyme, Reactivo para la recuperación del epítopo: Protease
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
5. Enjuague con agua DI
6. Lave con tampón TBST (minutos): 5
7. Tiempo de incubación del amplificador de detección AP HiDef (minutos): 10
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección AP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Enjuague con agua DI
14. Tiempo de incubación de rojo permanente (minutos): 15-30
15. Enjuague con agua DI
16. Aplique contratinción con hematoxilina
17. Enjuague con agua DI
18. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Adenocarcinoma	Citoplasmática, Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena

(citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.

15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.

16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.

17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	4	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	0	3	
Ovarios	0	3	
Páncreas	3	3	Conductos+; células acinares e islotes de Langerhans +
Paratiroides	3	3	Células parenquimatosas +
Pituitaria	3	3	Adenohipófisis +
Testículos	0	3	
Tiroides	3	3	Epitelio folicular +
Pecho	3	4	Conductos +; 1/3 lobulillos +
Bazo	0	3	
Amígdalas	0	3	
Timo	0	3	
Médula ósea	0	3	
Pulmones	2	3	Células epiteliales bronquiolares y alveolares +; 2/2 epitelio bronquial +
Corazón	0	3	
Esófago	0	3	
Estómago	2	3	Epitelio de mucosas +

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Intestino delgado	3	4	3/3 epitelio mucoso +
Colon	5	5	Epitelio de mucosas +
Hígado	3	3	Conductos biliares +
Glándula salival	3	3	Células de los conductos +; ácinos +
Riñones	4	4	Túbulos distales +; conductos colectores +
Próstata	2	3	Epitelio +
Útero	3	3	Epitelio endometrial +
Cérvix	3	3	Glándulas endocervicales +
Músculos del esqueleto	0	3	
Piel	3	3	Glándulas sudoríparas +; 1/1 folículos pilosos +
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	0	3	
Ganglio linfático	0	1	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma colorrectal	19	19	
Carcinoma ductal invasivo de mama	14	14	
Adenocarcinoma pulmonar	13	14	
Carcinoma de células basales	12	12	Difuso
Carcinoma de células renales cromófobas	12	12	Difuso
Carcinoma de células renales de células claras	3	14	Focales débiles; débiles poco frecuentes
Carcinoma epidermoide de células escamosas	3	12	De débil a moderado, focal
Carcinoma de células de Merkel	1	1	
Mesotelioma	0	14	
Queratosis seborreica	0	1	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Schnell, Ulrike et al. "EpCAM: structure and function in health and disease." *Biochimica et biophysica acta* vol. 1828,8 (2013): 1989-2001.
2. Latza, U et al. "Ber-EP4: new monoclonal antibody which distinguishes epithelia from mesothelial." *Journal of clinical pathology* vol. 43,3 (1990): 213-9.
3. Ordóñez, N G. "Value of the Ber-EP4 antibody in differentiating epithelial pleural mesothelioma from adenocarcinoma. The M.D. Anderson experience and a critical review of the literature." *American journal of clinical pathology* vol. 109,1 (1998): 85-9.
4. Ordóñez, Nelson G. "The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma." *The American journal of surgical pathology* vol. 27,8 (2003): 1031-51.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 14 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Cytokeratin (CAM 5.2) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
452M-94	0,1 ml concentrado
452M-95	0,5 ml concentrado
452M-96	1,0 ml concentrado
452M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
452M-98	7,0 ml prediluído listo para usar
452M-90	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

Cytokeratin (CAM 5.2) Mouse Monoclonal Antibody está diseñado para su uso en laboratorio en la detección de la proteína citoqueratina en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El anticuerpo anti-CAM 5.2 es un anticuerpo monoclonal murino que se generó utilizando la estirpe celular de carcinoma colorrectal humano HT24. El anticuerpo anti-CAM 5.2 reacciona con las citoqueratinas 7 y 8, que se expresan en los epitelios simples y glandulares y en el epitelio de transición. El anticuerpo anti-CAM 5.2 reacciona con la mayoría de los epitelios normales y con la mayoría de los carcinomas, incluidos los que surgen en el pulmón, el hígado, el páncreas, el tubo digestivo, la mama, el aparato genitourinario, los órganos reproductores femeninos y algunas glándulas endocrinas.[1,2] Este anticuerpo puede utilizarse como ayuda para identificar la diferenciación epitelial en tejidos normales y neoplásicos.

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contratefiirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_{2a}/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:25–1:100
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: Enzyme, Reactivo para la recuperación del epítopo: Protease
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10
5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 30-60
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: Enzyme, Reactivo para la recuperación del epítopo: Protease
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 30-60
5. Enjuague con agua DI
6. Lave con tampón TBST (minutos): 5
7. Tiempo de incubación del amplificador de detección AP HiDef (minutos): 10
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección AP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Enjuague con agua DI
14. Tiempo de incubación de rojo permanente (minutos): 15-30
15. Enjuague con agua DI
16. Aplique contratinción con hematoxilina
17. Enjuague con agua DI
18. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Carcinoma hepatocelular	Citoplasmática
Apéndice	Citoplasmática

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena

(citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.

15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	3	3	Corteza, débil/moderada, focal
Ovarios	3	3	Serosa +; 2/2 folículos, débiles, en células poco frecuentes
Páncreas	3	3	Conductos +; células acinares +; islotes de Langerhans, moderadas/débiles
Paratiroides	3	3	
Pituitaria	3	3	Adenohipófisis +
Testículos	3	3	Células de Sertoli, débiles, con un patrón paranuclear
Tiroides	3	3	Epitelio folicular +; células parafoliculares +
Pecho	3	3	Conductos +; lobulillos +; células mioepiteliales +
Bazo	3	3	Pulpa roja, débil, en células dispersas/poco frecuentes
Amígdalas	3	3	Epitelio pavimentoso +, en la cripta, débil en el epitelio de superficie
Timo	3	3	Epitelio +
Médula ósea	0	3	

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Pulmones	3	3	Bronquiolos +; alvéolos +; 1/1 bronquios +
Corazón	0	5	
Esófago	3	3	Epitelio pavimentoso, débil, en la capa basal
Estómago	3	3	Mucosa +; músculo liso, débil, en células poco frecuentes
Intestino delgado	3	3	Mucosa +
Colon	3	3	Mucosa +
Hígado	4	4	Vías biliares +; hepatocitos, moderados/débiles
Glándula salival	3	3	Células de los conductos +; ácinos +; células mioepiteliales +
Riñones	3	3	Túbulos +; conductos colectores +
Próstata	3	3	Epitelio +; células basales +
Útero	3	3	Epitelio endometrial +; miometrio +
Cérvix	2	3	Epitelio pavimentoso, débil, en la capa basal; 2/2 glándulas endocervicales +
Músculos del esqueleto	0	3	
Piel	3	3	Folículos pilosos, débiles; glándulas sebáceas, débiles; glándulas sudoríparas +
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	3	3	Células mesoteliales +
Apéndice	3	3	Epitelio mucoso +; 2/2 mesotelio +
Vesícula seminal	1	1	Epitelio +
Ganglio linfático	1	1	Células reticulares fibroblásticas, débiles

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Carcinoma hepatocelular	17	17	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Sarcoma sinovial	12	20	3/6 focal y 3/6 difuso en tejido con componente epitelioide presente (n=6); 1/12 focal con morfología bifásica, componente epitelioide teñido (n=1); 1/12 focal y 4/12 en células poco frecuentes en tejidos con morfología sarcomatoide (n=13)
Adenocarcinoma pulmonar	9	9	
Carcinoma de pulmón de células escamosas	8	8	
Carcinoma ductal invasivo de mama	6	6	
Carcinoma de mama lobular invasivo	6	6	
Carcinoma de células renales de células claras	6	6	2/6 focal; 1/6 en células poco frecuentes
Adenocarcinoma colorrectal	6	6	1/6 con células estromales fusiformes focales también con tinción débil/moderada
Cáncer de endometrio	6	6	5/6 también con tinción focal, débil/moderada en las células del músculo liso circundantes, en un patrón paranuclear
Carcinoma seroso de ovario	6	6	1/6 focal; 4/6 con células estromales fusiformes focales también con tinción, débil/moderada
Enfermedad de Paget (de la mama/piel)	6	6	
Adenocarcinoma ductal de páncreas	6	6	
Oncocitoma renal	6	6	1/6 focal
Carcinoma urotelial	6	6	1/6 focal; 1/6 en células poco frecuentes
Tipo difuso de carcinoma de estómago	5	5	
Carcinoma gástrico, tipo intestinal	5	5	
Adenoma en la pituitaria	5	6	2/6 en células poco frecuente; 1/6 focal
Carcinoma papilar de tiroides	4	4	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Carcinoma de células basales	3	3	
Carcinoma sebáceo	2	2	1/2 focal
Carcinoma epidermoide de células escamosas	2	6	Focal
Adenocarcinoma de vejiga	1	1	
Sarcoma de Ewing	1	5	Con células estromales reactivas y fusiformes con tinción moderada, focal
Glioblastoma	1	6	Focal
Tumor de vaina del nervio periférico maligno	1	6	En células escasas
Carcinoma pleomórfico	1	1	
Rabdomiosarcoma	1	6	En células escasas
Carcinoma suprarrenal	0	3	
Astrocitoma	0	6	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Bibliografía

1. Ordóñez, Nelson G. "Broad-spectrum immunohistochemical epithelial markers: a review." *Human pathology* vol. 44,7 (2013): 1195-215.
2. Pan, Chin-Chen et al. "Differential immunoprofiles of hepatocellular carcinoma, renal cell carcinoma, and adrenocortical carcinoma: a systemic immunohistochemical survey using tissue array technique." *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM* vol. 13,4 (2005): 347-52.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 26 Oct 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Cytokeratin Cocktail (AE1 & AE3) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
313M-14	0,1 ml concentrado
313M-15	0,5 ml concentrado
313M-16	1,0 ml concentrado
313M-17	1,0 ml prediluído listo para usar
313M-18	7,0 ml prediluído listo para usar
313M-10	25,0 ml prediluído listo para usar
313M-19	15,0 ml, prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

Cytokeratin Cocktail (AE1 & AE3) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para el uso en la detección de las proteínas de citoqueratina en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina, teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El cóctel de anticuerpos de queratina (AE1 y AE3) es un cóctel de anticuerpos de queratina de amplio espectro.[1-3] Está compuesto por el anticuerpo monoclonal murino AE1 que reconoce las queratinas ácidas de tipo I 10, 14, 15, 16, 19 y AE3 que reacciona a las queratinas básicas de tipo II 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8. Ambos clones se generaron utilizando queratina epidérmica como inmunógeno.[1-3] Este anticuerpo es útil para identificar células de origen epitelial y detecta la mayoría de carcinomas de diferentes sitios principales.[1,2] Este cóctel de anticuerpos puede producir una reacción cruzada con otros filamentos intermedios, como la proteína ácida fibrilar glial, y producir una tinción positiva falsa en los tumores gliales.[4]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	AE1: IgG_1/k & AE3: IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100–1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween® 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10
5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
5. Enjuague con agua DI
6. Lave con tampón TBST (minutos): 5
7. Tiempo de incubación del amplificador de detección AP HiDef (minutos): 10
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección AP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Enjuague con agua DI
14. Tiempo de incubación de rojo permanente (minutos): 15-30
15. Enjuague con agua DI
16. Aplique contratinción con hematoxilina
17. Enjuague con agua DI
18. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Pecho	Citoplasmática
Pulmones	Citoplasmática
Colon	Citoplasmática
Piel	Citoplasmática

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.

13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Limitaciones Específicas

1. Este cóctel de anticuerpos puede producir una reacción cruzada con otros filamentos intermedios, como la proteína ácida fibrilar glial, y producir una tinción positiva falsa en las tinciones de los tumores gliales.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	2	5	Neurogliocitos, débil, focal
Cerebelo	2	4	Neurogliocitos, débil, focal
Glándula adrenal	3	3	corteza +
Ovarios	3	3	Serosa +
Páncreas	3	3	Conductos, células acinares e islotes de Langerhans +
Paratiroides	3	3	
Pituitaria	3	3	Adenohipófisis +
Testículos	0	3	
Tiroides	3	3	Epitelio folicular +
Pecho	3	3	Conductos, lobulillos y células mioepiteliales +

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Bazo	0	3	
Amígdalas	3	3	Epitelio escamoso +
Timo	3	3	Células epiteliales +
Médula ósea	0	3	
Pulmones	3	3	Bronquios, bronquiolos y alvéolos +
Corazón	0	3	
Esófago	3	3	Epitelio escamoso +
Estómago	3	3	Mucosa +
Intestino delgado	3	3	Mucosa +
Colon	3	3	Mucosa +
Hígado	3	3	Hepatocitos y vías biliares +
Glándula salival	3	3	Células de los conductos, ácinos y células mioepiteliales +
Riñones	3	3	Túbulos y conductos colectores +
Próstata	6	6	Epitelio y células basales +
Útero	3	3	Epitelio endometrial +
Cérvix	3	3	Epitelio pavimentoso +; 2/3 glándulas endocervicales +
Músculos del esqueleto	0	3	
Piel	3	3	Epidermis y glándulas sudoríparas +; 2/2 folículos pilosos y glándulas sebáceas +
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	3	3	Células mesoteliales +

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Carcinoma de pulmón de células escamosas	18	18	
Carcinoma ductal invasivo de mama	15	15	
Carcinoma de células escamosas del esófago	15	15	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma pulmonar	15	15	
Carcinoma de próstata	15	15	
Carcinoma de colorectal	14	14	
Carcinoma epidermoide de células escamosas	14	14	
Astrocitoma	12	12	
Glioblastoma, cerebral	9	12	
Carcinoma de células escamosas del cuello uterino	2	2	
Linfoma anaplásico de células grandes	0	6	
Angiosarcoma	0	3	
Liposarcoma desdiferenciado	0	2	
Linfoma difuso de células grandes B	0	13	
Leiomiosarcoma	0	3	
Meningioma	0	12	
Rabdomiosarcoma	0	15	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Battifora, H. "Clinical applications of the immunohistochemistry of filamentous proteins." *The American journal of surgical pathology* vol. 12 Suppl 1 (1988): 24–42.
2. Cooper, D et al. "Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: strategies, applications, and limitations." *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* vol. 52,3 (1985): 243–56.
3. Gown, A M, and A M Vogel. "Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors." *American journal of clinical pathology* vol. 84,4 (1985): 413–24.
4. Kriho, V K et al. "Keratin expression in astrocytomas: an immunofluorescent and biochemical reassessment." *Virchows Archiv : an international journal of pathology* vol. 431,2 (1997): 139–47.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 5 Jun 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD10 (56C6) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
110M-14	0,1 ml concentrado
110M-15	0,5 ml concentrado
110M-16	1,0 ml concentrado
110M-17	1,0 ml prediluído listo para usar
110M-18	7,0 ml prediluído listo para usar
110M-10	25,0 ml prediluído listo para usar
110M-19	15,0 ml, prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CD10 (56C6) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio en la detección de la enzima CD10 en tejido humano fijado con formol, incluido en parafina y teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El CD10, antígeno de la leucemia linfoblástica aguda común, se expresa mediante un subconjunto de células T foliculares cooperadoras.[1,2] El CD10 tiene un papel directo en el crecimiento celular y en la apoptosis y participa en la proliferación de células tumorales.[3] Se ha informado de la expresión de CD10 en varios tejidos, así como en el carcinoma de células renales, en el carcinoma hepatocelular y en el linfoma folicular.[4,5]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:10–1:50
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10
5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 30-60
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Riñones	Citoplasmática, Membranoso
Ganglio linfático	Citoplasmática, Membranoso
Amígdalas	Citoplasmática, Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una

contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	3	3	Sustancia blanca +
Glándula adrenal	1	3	corteza +
Ovarios	0	3	
Páncreas	0	3	
Paratiroides	1	3	
Pituitaria	1	3	Adenohipófisis +
Testículos	1	3	Células de Sertoli +
Tiroides	0	3	
Pecho	3	3	Células mioepiteliales +
Bazo	3	3	Pulpa roja +
Amígdalas	5	5	Células del centro germinativo +; células plasmáticas +
Timo	3	3	Linfocitos corticales dispersos
Médula ósea	3	3	Linfocitos +; monocitos/ macrófagos +; granulocitos +
Pulmones	3	3	Alvéolos +; macrófagos +
Corazón	0	3	
Esófago	0	4	
Estómago	0	3	
Intestino delgado	3	3	Mucosa +
Colon	0	3	
Hígado	2	3	Vías biliares +; canalículos +
Glándula salival	3	3	Células mioepiteliales +
Riñones	3	3	Glomérulos +; túbulos +
Próstata	3	3	Epitelio +; células basales +
Útero	3	3	Estroma endometrial +
Cérvix	3	3	Estroma +; 1/3 epitelio pavimentoso +
Músculos del esqueleto	3	3	
Piel	3	3	Glándula sebácea +; 1/3 dermis +

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Nervios periféricos	3	3	Fibras nerviosas +
Revestimiento mesotelial	0	3	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma folicular	9	9	
Oncocitoma renal	8	10	
Carcinoma de células renales	7	7	
Linfoma Burkitt	5	5	
Carcinoma de células renales cromófobas	4	9	
Carcinoma hepatocelular	4	6	
Adenocarcinoma colorrectal	1	10	
Linfoma difuso de células grandes B	1	10	
Linfoma de célula del manto	1	10	
Carcinoma urotelial	1	1	
Linfoma de zona marginal	0	10	
linfoma linfocítico pequeño	0	9	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Maguer-Satta V, et al. Concise review: neutral endopeptidase (CD10): a multifaceted environment actor in stem cells, physiological mechanisms, and cancer. Stem Cells. 2011; 29:389-96.
2. Laurent C, et al. A novel subset of T-helper cells: follicular T-helper cells and their markers. Haematologica. 2010; 95: 356-8.
3. Onak NK, et al. CD10 expression in urothelial bladder carcinomas: staining patterns and relationship with pathologic parameters. Turk J Med Sci. 2010; 40:177-84.
4. Chu P, et al. Paraffin-section detection of CD10 in 505 nonhematopoietic neoplasms. Am J Clin Pathol. 2000; 113: 374-82.
5. Swerdlow S, et al. WHO classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. 4th edition. 2008. P. 220,233,255,265,309.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 6 Jul 2023

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

CD117, c-kit (YR145)
Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)



Identificación del Producto

REF	Descripción
117R-14	0,1 ml concentrado
117R-15	0,5 ml concentrado
117R-16	1,0 ml concentrado
117R-17	1,0 ml prediluído listo para usar
117R-18	7,0 ml prediluído listo para usar
117S	Portaobjetos de control positivo, 5 portaobjetos/paquete
117R-10	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

El anticuerpo CD117, c-kit (YR145) está indicado para la identificación cualitativa mediante microscopía óptica de la presencia de antígenos asociados en cortes de tejidos incluidos en parafina y fijados con formol utilizando métodos de pruebas IHC (inmunohistoquímicas) en laboratorios cualificados. El uso de este anticuerpo está indicado, dentro del contexto de un panel de anticuerpos, la historia clínica del paciente y otras pruebas de diagnóstico evaluadas por un patólogo cualificado, después de un diagnóstico diferencial clínico, como ayuda en la identificación de lo siguiente:

- Tumor del estroma gastrointestinal
- Carcinoma de células renales
- Mastocitosis
- Tumores de células germinales

Resumen y Explicación

El CD117, c-kit es un receptor de la tirosina quinasa que se encuentra en las células intersticiales de Cajal, células germinales, células de la médula espinal, melanocitos y mastocitos. La expresión del CD117 mediante inmunohistoquímica se considera una característica de diagnóstico clave en los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) y se ve en la mayoría de estos tumores. El patrón de tinción de la expresión del CD117 en GIST normalmente es fuerte y difusa, y muestra un patrón pancitoplásmico y en ocasiones membranoso. Además, algunos GIST, especialmente los GIST extraintestinales o epitelioides, muestran un patrón de inmunotinción como puntos citoplásmicos.[1] Cuando se utiliza en combinación con otros marcadores, aumenta la sensibilidad y especificidad del anticuerpo CD117. El panel, que incluye el CD117, CD34, S-100, desmin y SMA, puede diferenciar de forma eficaz entre GIST, tumores de músculo liso verdaderos y tumores neurales, porque los GIST normalmente no expresan el desmin ni S100, sino que demuestran inmunopositividad para el CD117 y/o CD34 y en ocasiones para el SMA. Por lo tanto, en el espectro de neoplasias mesenquimales del tubo gastrointestinal, el CD117, CD34, desmin, S-100 y SMA debe ser el panel principal de elección para la mayoría de circunstancias.[2] Un diagnóstico diferencial clínicamente y morfológicamente importante de los tumores de células germinales es la distinción del seminoma del carcinoma embrionario. Se recomienda un panel de 2 anticuerpos, el CD117 y CD30 con patrones opuestos de reactividad, y el CD117 puede demostrarse en el 95%-100% del seminoma, así como en la neoplasia intratubular de células germinales, pero es negativo en casi todos los carcinomas embrionarios.[3] La distinción morfológica del carcinoma de células renales transparentes (RCC), RCC cromófoba, eosinófilo y oncocitoma a veces genera dificultades, especialmente para los tumores de grado alto. Un panel de tres anticuerpos, incluido el CD117, CK7 y CA IX, ayudaría a separarlos. El RCC de células transparentes mostrará tinción membranosa difusa de las células tumorales mediante CA IX, pero da negativo para CD117 y CK7; el RCC cromófobo dará positivo para CK7 (citoplásmico) y CD117 (membranoso); mientras que el CD117 resalta el oncocitoma en la membrana, pero da casi completamente negativo para CK7.[4] Los trastornos de los mastocitos, aunque no son comunes, pueden ser difíciles de diagnosticar por la superposición morfológica con otras enfermedades como los linfomas de células B y T, la leucemia mielógena aguda y crónica, los síndromes mielodisplásicos y las proliferaciones histocíticas. Se sabe bien que los mastocitos muestran tinción membranosa y citoplásmica inconfundible para el CD117. Además, se aprecia una tinción similar en los trastornos de los mastocitos y

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

puede utilizarse para identificar neoplasias de mastocitos en la médula espinal, piel, ganglios linfáticos y órganos macizos.[5]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Isotipo	IgG
Intervalo de concentración de Ig de predilución	0.01-1.0 µg/ml
Intervalo de concentración de Ig del concentrado	1-130 µg/ml
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.

8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica (N.º de catálogo 976L) para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween® 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin (N.º de catálogo 930B-05) u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents (N.º de catálogo 928B-02 para usar con detección con estreptavidina-biotina)
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 932B-02 para ratón; N.º de catálogo 933B-02 para conejo, N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Permanent Aqueous Mounting Medium (N.º de catálogo 931B-03)
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Cell Marque si encuentra algún indicio sospechoso de inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef Detection™ HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1 Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2 Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3 Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4 Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5 Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
6 Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Detection™ Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1 Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2 Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3 Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4 Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5 Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6 Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Tumor del estroma gastrointestinal	Citoplasmática, Membranoso
Seminoma	Citoplasmática, Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles se deben comunicar inmediatamente al servicio de atención al cliente de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Cell Marque ante cualquier sospecha de reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.

14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	1	1	
Córtex adrenal	0	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	0	1	
Paratiroides	0	1	
Pituitaria	0	1	
Testículos	0	1	
Tiroides	0	1	
Pecho	4	4	
Bazo	0	1	
Amígdalas	0	1	
Timo	0	1	
Médula ósea	0	1	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	0	1	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	0	1	
Colon	0	1	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	1	
Vesícula biliar	0	1	
Riñones	1	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	0	1	
Útero	0	1	

Estudio Normal (seguido)			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Trompas de Falopio	0	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	1	
Músculo liso	0	1	
Piel	1	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	2	
Grasa	0	2	
Placenta	0	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales, como se indica en la literatura. También resalta mastocitos de tejidos, epitelio ductal de mama, epitelio tubular renal y células intestinales de Cajal.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Tumor del estroma gastrointestinal	15	15	
Carcinoma de colon	9	38	
Seminoma	5	5	
Médula ósea	4	4	
Teratoma	3	3	
Carcinoma de células renales cromófobas	2	3	
Tumor testicular	2	3	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	14	
Carcinoma embrionario	0	1	
Fibromatosis	0	3	
Carcinoma folicular de tiroides	0	2	
Oncocitoma	0	3	
Carcinoma papilar de tiroides	0	6	
Carcinoma de células renales	0	19	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.

4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Consulte las medidas correctoras en la sección Procedimiento detallado o póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Cell Marque.

Bibliografía

1. Turner MS, et al. Best practices in diagnostic immunohistochemistry: spindle cell neoplasms of the gastrointestinal tract. Arch Pathol Lab Med. 2009; 133:1370-4.
2. Gibson PC, et al. CD117 (KIT): a diverse protein with selective applications in surgical pathology. Adv Anat Pathol. 2002; 9:65-9.
3. Ulbright TM, et al. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in testicular tumors: report from the International Society of Urological Pathology consensus conference. Am J Surg Pathol. 2014; 38:e50-9.
4. Reuter VE, et al. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the kidney tumors: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference. Am J Surg Pathol. 2014; 38:e35-49.
5. Natkunam Y, et al. Utility of paraffin section immunohistochemistry for C-KIT (CD117) in the differential diagnosis of systemic mast cell disease involving the bone marrow. Am J Surg Pathol. 2000; 24:81-91.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

Cell Marque es el fabricante legal de los anticuerpos de diagnóstico *in vitro* de la marca Cell Marque + RabMAb. Cell Marque utiliza la tecnología RabMAb de Abcam PLC para esta marca. La tecnología monoclonal de conejo está patentada y RabMAb es una marca registrada de Abcam PLC.

www.cellmarque.com

6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE
Molenstraat 15, 2513 BH, The Hague, NL.

CE

CM Template #0.2
Implemention date 22 Apr 2016

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

CD138 (EP201) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
138R-24	0,1 ml concentrado
138R-25	0,5 ml concentrado
138R-26	1,0 ml concentrado
138R-27	1,0 ml prediluído listo para usar
138R-28	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

El CD138 (EP201) Rabbit Monoclonal Primary Antibody está diseñado para utilizarse en un laboratorio para detectar la proteína CD138 en tejidos embebidos en parafina, fijados con formalina y teñidos en inmunohistoquímica cualitativa (IHC).

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El CD138, Syndecan 1, se expresa en las últimas fases de la diferenciación de células B con progresión hacia células plasmáticas.[1,2] Puede utilizarse para diferenciar el linfoma linfoplasmacítico del linfoma de zona marginal.[1] El linfoma de células B grandes (LBCL) ALK+ normalmente expresa notablemente el CD138, mientras que los marcadores asociados al linaje como el anti-CD20 y anti-CD79a no tiñen el ALK+LBCL.[3,7] El anti-CD138 es inmunorreactivo con el linfoma de efusión primaria asociado al HHV8, incluso aunque las células del linfoma carezcan de la expresión de marcadores de células B.[5] El anti-CD138 es un buen marcador para identificar y enumerar células plasmáticas, benignas, reactivas o malignas en muestras de biopsia de médula ósea.[4,6] El CD138 también se expresa en células epiteliales.[6]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	conejo
Isotipo	IgG
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100–1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	6	
Córtex adrenal	0	3	
Ovarios	0	3	
Páncreas	1	3	
Paratiroides	1	3	
Pituitaria	0	3	

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Testículos	0	3	
Tiroides	1	3	
Pecho	3	3	
Bazo	3	3	
Amígdalas	12	12	
Timo	0	3	
Médula ósea	10	12	
Pulmones	3	3	Epitelio bronquial
Corazón	0	3	
Esófago	3	3	
Estómago	2	3	
Intestino delgado	1	3	
Colon	3	3	
Hígado	3	3	
Glándula salival	3	3	
Vesícula biliar	3	3	
Riñones	3	3	
Vejiga	3	3	
Próstata	2	3	
Útero	3	3	
Trompas de Falopio	0	2	
Uréter	3	3	
Cérvix	2	2	
Músculos del esqueleto	0	1	
Músculo liso	3	6	
Piel	3	3	
Nervios periféricos	0	3	
Mesotelio	0	3	
Grasa	0	3	
Placenta	3	3	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Mieloma de células de plasma	9	9	
Linfoma anaplásico de células grandes	2	2	
Mieloma múltiple	2	2	
Carcinoma papilar de tiroides	2	2	
Linfoma de efusión primaria	1	1	
Linfoma linfoblástico	0	9	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Chilosi M, et al. CD138/syndecan-1: a useful immunohistochemical marker of normal and neoplastic plasma cells on routine trephine bone marrow biopsies. Mod Pathol. 1999; 12:1101-6.
2. Sebestyén A, et al. Syndecan-1 (CD138) expression in human non-Hodgkin lymphomas. Br J Haematol. 1999; 104:412-9.
3. The International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Geneva: WHO Press. 2008. p 254.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

4. Bayer-Garner IB, et al. Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma: shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions. Mod Pathol. 2001; 14:1052-8.
5. The International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Geneva: WHO Press. 2008. p 261.
6. O'Connell FP, et al. CD138 (syndecan-1), a plasma cell marker immunohistochemical profile in hematopoietic and nonhematopoietic neoplasms. Am J Clin Pathol. 2004; 121:254-63.
7. Colomo L, et al. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of disease entities. Am J Surg Pathol. 2004; 28:736-47.

Limitaciones de Responsabilidad

Cell Marque es el fabricante legal de los anticuerpos de diagnóstico *in vitro* de la marca Cell Marque + RabMAb. Cell Marque utiliza la tecnología RabMAb de Abcam PLC para esta marca. La tecnología monoclonal de conejo está patentada y RabMAb es una marca registrada de Abcam PLC.

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declare y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 18 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD15 (MMA) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
115M-14	0,1 ml concentrado
115M-15	0,5 ml concentrado
115M-16	1,0 ml concentrado
115M-17	1,0 ml prediluído listo para usar
115M-18	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CD15 (MMA) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para el uso en la detección de la proteína CD15 en tejido fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

La CD15 es un antígeno carbohidrato con la estructura de trisacáridos común 3-fucosil-N-acetil-lactosamina, también se conoce como Lewis x (Lex) o antígeno embrionario de fase específica 1 (SSEA-1).[1-3] La CD15 se expresa en células mieloides y media la adhesión de neutrófilos a las células dendríticas.[2-3] La CD15 también se expresa en células Reed-Sternberg y por tanto es útil como marcador para la identificación del linfoma de Hodgkin.[1]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contratenirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgM
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:25-1:100
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10

6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Linfoma de Hodgkin	Citoplasmática, Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	1	1	
Córtex adrenal	1	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	1	1	
Paratiroides	0	1	
Pituitaria	1	1	
Testículos	0	1	
Tiroides	0	1	
Pecho	2	2	
Bazo	1	1	
Amígdalas	0	1	
Timo	0	1	
Médula ósea	1	1	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	1	2	
Estómago	1	1	
Intestino delgado	0	1	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Colon	1	1	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	2	
Vesícula biliar	1	1	
Riñones	3	3	
Vejiga	0	1	
Próstata	2	2	
Útero	2	2	
Trompas de Falopio	0	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	1	1	
Músculos del esqueleto	0	2	
Músculo liso	0	4	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	1	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma de colon	19	21	
Carcinoma ductal invasivo de mama	8	20	
Linfoma de Hodgkin clásico	5	5	
Adenocarcinoma pulmonar	4	4	
Carcinoma de células renales	1	2	
Adenoma sebáceo	1	1	
Linfoma anaplásico de células grandes	0	1	
Carcinoma de células de Merkel	0	1	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma de Hodgkin predominante nodular de linfocitos	0	2	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Pellegrini W, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma. Haematologica. 2007; 92:708-9.
2. Stocks SC, et al. Expression of the CD15 differentiation antigen (3-fucosyl-N-acetyl-lactosamine, LeX) on putative neutrophil adhesion molecules CR3 and NCA-160. Biochem J. 1990; 268: 275–80.
3. Gadhoum SZ, et al. CD15 expression in human myeloid cell differentiation is regulated by sialidase activity. Nat Chem Biol. 2008; 4:751-7.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque,

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 18 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD23 (1B12) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
123M-14	0,1 ml concentrado
123M-15	0,5 ml concentrado
123M-16	1,0 ml concentrado
123M-17	1,0 ml prediluído listo para usar
123M-18	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CD23 (1B12) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para el uso en la detección de la proteína CD23 en tejido fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El antígeno CD23 es una glucoproteína de membrana de 45-60 kDa identificada como un receptor de baja afinidad por la producción de IgE, así como un receptor del factor de crecimiento de los linfocitos.[1] El CD23 se encuentra en algunos linfomas de células B maduras y en células Reed-Sternberg en la enfermedad de Hodgkin[2] Las células dendríticas foliculares y algunas células B activadas dentro de los centros germinales expresan CD23 en alta densidad y las células B de la zona del manto se tiñen.[3] La mayoría de las leucemias linfocíticas crónicas/linfomas de linfocitos pequeños son positivos para anti-CD23, mientras que los linfomas de células del manto suelen ser negativos, por lo que este marcador resulta útil cuando se aplican otros marcadores para separar los linfomas de células pequeñas.[1,3] Los linfomas de precursores B y T, las neoplasias mieloides y los linfomas de linfocitos T maduros son negativos para CD23 y otros linfomas de células pequeñas son ocasionalmente positivos.[4] El anti-CD23 se expresa en las células B maduras activadas que expresan IgM o IgD, monocitos/macrófagos, células dendríticas foliculares, subconjuntos de linfocitos T, eosinófilos, células de Langerhans y linfoma de linfocitos pequeños/leucemia linfocítica crónica.[1-4]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:10-1:50
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween® 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2–8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de

la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	1	
Córtex adrenal	0	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	0	1	
Paratiroides	0	1	
Pituitaria	0	1	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Testículos	0	1	
Tiroides	0	1	
Pecho	0	2	
Bazo	1	1	
Amígdalas	4	5	
Timo	0	1	
Médula ósea	0	1	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	0	1	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	0	1	
Colon	0	1	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	1	
Vesícula biliar	0	1	
Riñones	0	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	0	2	
Útero	0	2	
Trompas de Falopio	0	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	2	
Músculo liso	0	4	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	0	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
linfoma linfocítico pequeño	5	6	
Linfoma folicular	1	2	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	23	
Linfoma Burkitt	0	2	
Adenocarcinoma de colon	0	19	
Linfoma difuso de células grandes B	0	2	
Leucemia de células pilosas	0	2	
Linfoma de célula del manto	0	2	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Fournier S, et al. CD23 antigen regulation and signaling in chronic lympotic leukemia. J Clin. Invest. 1992; 89:1312-21.
2. Rowlands DC, et al. Immunohistochemical determination of CD23 expression in Hodgkin's disease using paraffin sections. J Pathol. 1990; 160:239-43.
3. DiRaimondo F, et al. The clinical and diagnostic relevance of CD23 expression in the chronic lymphoproliferative disease. Cancer. 2002; 94:1721-30.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

4. Raghoebier S, et al. Essential differences in oncogene involvement between primary nodal and extranodal large cell lymphoma. Blood. 1991; 78:2680-5.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 18 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

CD3 (MRQ-39) Rabbit Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
103R-94	0,1 ml concentrado
103R-95	0,5 ml concentrado
103R-96	1,0 ml concentrado
103R-97	1,0 ml prediluído listo para usar
103R-98	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

El anticuerpo primario monoclonal de conejo CD3 (MRQ-39) está diseñado para utilizarse en un laboratorio para detectar la proteína CD3 en tejidos embebidos en parafina, fijados con formalina y teñidos en pruebas de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

La detección inmunohistoquímica del CD3 localiza el componente citoplasmático de la proteína CD3. Se considera que el anti-CD3 es un marcador de todas las células T y reacciona con un antígeno presente en la superficie y en el citoplasma de linfocitos T. El anti-CD3 se utiliza de forma amplia para identificar cánceres de células T maduras e inmaduras.[1-8]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	conejo
Isotipo	IgG_1
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100–1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53–65 °C

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2–8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53–65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10–30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1–10

6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Córtex adrenal	0	3	
Ovarios	0	3	
Páncreas	0	3	
Paratiroides	0	3	
Pituitaria	0	3	
Testículos	0	3	
Tiroides	0	3	
Pecho	0	3	
Bazo	3	3	
Amígdalas	3	3	
Timo	3	3	
Médula ósea	3	3	
Pulmones	0	3	
Corazón	0	3	
Esófago	0	3	
Estómago	0	3	
Intestino delgado	0	3	

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Colon	0	3	
Hígado	0	3	
Glándula salival	0	3	
Vesícula biliar	0	3	
Riñones	0	3	
Vejiga	0	3	
Próstata	0	3	
Útero	0	4	
Trompas de Falopio	0	2	
Uréter	0	3	
Cérvix	0	2	
Músculos del esqueleto	0	3	
Músculo liso	0	3	
Piel	0	3	
Nervios periféricos	0	3	
Mesotelio	0	3	
Grasa	0	3	
Placenta	0	3	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma anaplásico de células grandes	6	7	
Linfoma folicular	4	5	
Linfoma de célula del manto	4	5	
Linfoma periférico de células T NOS	4	4	
Linfoma de células T	4	4	
linfoma linfocítico pequeño	3	4	
Linfoma difuso de células grandes B	2	2	
Leucemia de células pilosas	2	4	
Linfoma de células NK	2	2	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Leucemia/linfoma de células T adultas	1	1	
Linfoma de zona marginal	1	1	
Leucemia linfocítica granular grade de células T	1	1	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	21	
Carcinoma de colorectal	0	9	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Denning SM, et al. Activation of human thymocytes via CD3 and CD2 molecules. In: McMichael AJ, et al. eds. Leucocyte Typing III, White Cell Differentiation Antigens. Oxford-New York-Tokyo. Oxford University Press. 1987; 144-7.
2. Beverley PC, et al. Distinctive functional characteristics of human "T" lymphocytes defined by E rosetting or a monoclonal anti-T cell antibody. Eur J Immunol. 1981; 11:329-34.
3. Clevers H, et al. The transmembrane orientation of the epsilon chain of the TcR/CD3 complex. Eur J Immunol. 1988; 18:705-10.

4. Campana D, et al. The cytoplasmic expression of CD3 antigens in normal and malignant cells of the T lymphoid lineage. J Immunol. 1987; 138:648-55.
5. Hedvat CV, et al. Application of tissue microarray technology to the study of non-Hodgkin's and Hodgkin's lymphoma. Hum Pathol. 2002; 33:968-74.
6. Karube K, et al. Non-B, non-T neoplasms with lymphoblast morphology: further clarification and classification. Am J Surg Pathol. 2003; 27:1366-74.
7. Dogan A, et al. Micronodular T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma of the spleen: histology, immunophenotype, and differential diagnosis. Am J Surg Pathol. 2003; 27:903-11.
8. Axdorph U, et al. T-cell-rich B-cell lymphoma - diagnostic and therapeutic aspects. APMIS. 2002; 110:379-90.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declare y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 28 Aug 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD30 (Ber-H2) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
130M-94	0,1 ml concentrado
130M-95	0,5 ml concentrado
130M-96	1,0 ml concentrado
130M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
130M-98	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

El CD30 (Ber-H2) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para utilizarse en un laboratorio para detectar la proteína CD30 en tejidos embebidos en parafina, fijados con formalina y teñidos en pruebas de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El anti-CD30 detecta un epítopo resistente a la formalina que se expresa mediante las células del Reed-Sternberg en el linfoma de Hodgkin clásico, la mayoría de los linfomas anaplásicos de células grandes, trastornos linfoproliferativos de linfocitos T positivos CD30 cutáneos primarios[1-3] y en carcinomas embrionarios.[4] Ocasionalmente el linfoma difuso de células B grandes se tiñe con este anticuerpo.[3] Este anticuerpo también tiñe las células plasmáticas del tejido incluido en parafina, así como inmunoblastos reactivos. El patrón de tinción del anti-CD30 en el linfoma y carcinoma embrionario es distinto, siendo el primero membranoso y con acentuación de la zona de Golgi en la ubicación, y siendo el segundo solo membranoso.[4]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:50–1:200
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Linfoma de Hodgkin clásico	Membranoso
Linfoma	Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso.

También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	1	
Córtex adrenal	0	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	0	1	
Paratiroides	0	1	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Pituitaria	0	1	
Testículos	0	1	
Tiroides	0	1	
Pecho	0	2	
Bazo	0	1	
Amígdalas	0	1	
Timo	0	1	
Médula ósea	0	1	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	0	1	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	0	1	
Colon	0	1	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	1	
Vesícula biliar	0	1	
Riñones	0	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	0	2	
Útero	0	1	
Trompas de Falopio	0	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	1	
Músculo liso	0	3	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	0	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma anaplásico de células grandes	1	1	
Linfoma de Hodgkin clásico	1	1	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	23	
Adenocarcinoma de colon	0	19	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Schwarting R, et al. BER-H2: a new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formol-resistant epitope. Blood. 1989; 74:1678-89.
2. George DH, et al. Primary anaplastic large cell lymphoma of the central nervous system: prognostic effect of ALK-1 expression. Am J Surg Pathol. 2003; 27:487-93.
3. Hedvat CV, et al. Application of tissue microarray technology to the study of non-Hodgkin's and Hodgkin's Lymphoma. Hum Pathol. 2002; 33:968-74.
4. Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry Theranostic and Genomic Applications. 4th Edition Saunders Elsevier. 2014; p702.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 18 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD34 (QBEnd/10) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
134M-14	0,1 ml concentrado
134M-15	0,5 ml concentrado
134M-16	1,0 ml concentrado
134M-17	1,0 ml prediluído listo para usar
134M-18	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CD34 (QBEnd/10) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio para la detección de la proteína CD34 en tejido humano fijado con formol, incluido en parafina y teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El CD34 es una glicofosfoproteína de superficie celular expresada en células progenitoras hematopoyéticas humanas y puede utilizarse para identificar blastocitos.[1] El CD34 es un marcador para células endoteliales vasculares y se ha demostrado en la literatura que es muy sensible a los angiosarcomas y a los sarcomas de Kaposi.[2] Además, el CD34 se expresa en tumores de partes blandas como los tumores del estroma gastrointestinal (GIST).[3]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:50-1:200
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53–65 °C

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10

5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
5. Enjuague con agua DI
6. Lave con tampón TBST (minutos): 5
7. Tiempo de incubación del amplificador de detección AP HiDef (minutos): 10
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección AP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Enjuague con agua DI
14. Tiempo de incubación de rojo permanente (minutos): 15-30
15. Enjuague con agua DI
16. Aplique contratinción con hematoxilina
17. Enjuague con agua DI
18. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Citoplasmática, Membranoso
Placenta	Citoplasmática, Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede

ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.

17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	0	3	
Ovarios	0	3	
Páncreas	0	3	
Paratiroides	0	3	
Pituitaria	0	3	
Testículos	0	3	
Tiroides	0	3	
Pecho	0	3	
Bazo	0	3	
Amígdalas	0	3	
Timo	0	3	
Médula ósea	0	3	
Pulmones	0	3	
Corazón	0	5	
Esófago	0	3	
Estómago	0	3	
Intestino delgado	0	3	
Colon	0	3	
Hígado	7	7	Endotelio de los vasos sanguíneos+
Glándula salival	0	3	
Riñones	3	3	Glomérulos + en el endotelio
Próstata	0	3	

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Útero	3	3	Estroma endometrial + en el endotelio, débil en las células estromales focales
Cérvix	3	3	Estroma + en el endotelio, moderado en las células estromales
Músculos del esqueleto	0	3	
Piel	2	3	Focal de los folículos pilosos
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	0	3	
Vesícula seminal	0	1	
Ganglio linfático	0	1	

Células endoteliales +

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Sarcoma de Kaposi	7	7	
Nódulos cirróticos del hígado	6	6	Endotelio de los vasos sanguíneos +; 2/6 células endoteliales sinusoidales focales
Hemangioma	6	6	
Tumor fibroso solitario	6	6	
Tumor del estroma gastrointestinal	5	8	
Meningioma	3	12	2/12 focal
Angiosarcoma	2	3	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	9	
Adenocarcinoma colorrectal	0	9	
Carcinoma hepatocelular	0	12	Capilares y endotelio de los vasos sanguíneos +
Leiomioma	0	9	
Leiomiosarcoma	0	3	
Tumor de vaina del nervio periférico maligno	0	8	
Schwannoma	0	4	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Sarcoma sinovial	0	9	
Sarcoma de tejido blando sin diferenciar	0	3	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Torlakovic G, et al. CD34/QBEND10 immunostaining in the bone marrow trephine biopsy: a study of CD34-positive mononuclear cells and megakaryocytes. Arch Pathol Lab Med. 2002; 126:823-8.
2. Nielsen JS, et al. Novel functions of the CD34 family. J Cell Sci. 2008; 121: 3683-92.
3. Kisluk J, et al. Immunohistochemical diagnosis of gastrointestinal stromal tumors - an analysis of 80 cases from 2004 to 2010. Adv. Clin Exp Med. 2013; 22:33-9.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 28 Aug 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD5 (SP19) Rabbit Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
205R-14	0,1 ml concentrado
205R-15	0,5 ml concentrado
205R-16	1,0 ml concentrado
205R-17	1,0 ml prediluído listo para usar
205R-18	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

El anticuerpo primario monoclonal de conejo CD5 (SP19) está diseñado para utilizarse en un laboratorio para detectar la proteína CD5 en tejidos embebidos en parafina, fijados con formalina y teñidos en pruebas de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El anti-CD5 es un marcador de todas las células T que también reacciona con varias células B neoplásicas. La expresión del CD5 resulta útil para distinguir neoplasias de células T maduras y para diferenciar entre cánceres de células linfoides pequeñas y maduras. El anti-CD5 no reacciona con granulocitos ni monocitos.[1-7]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	conejo
Isotipo	IgG
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100–1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53–65 °C

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2–8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53–65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10–30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1–10

6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Membranoso
Ganglio linfático	Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra

del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	1	
Córtex adrenal	0	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	0	1	
Paratiroides	0	1	
Pituitaria	0	1	
Testículos	0	1	
Tiroides	0	1	
Pecho	0	2	
Bazo	1	1	
Amígdalas	5	5	
Timo	1	1	
Médula ósea	4	5	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Esófago	0	2	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	0	1	
Colon	0	1	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	2	
Vesícula biliar	0	1	
Riñones	0	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	0	2	
Útero	0	2	
Trompas de Falopio	0	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	2	
Músculo liso	0	4	
Piel	0	2	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	0	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma de colon	5	23	
Linfoma angioinmunoblástico de células T	2	2	
Linfoma linfoblástico	2	2	
Linfoma de célula del manto	2	2	
linfoma linfocítico pequeño	2	2	
Linfoma de células T	2	3	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	22	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma Burkitt	0	1	
Linfoma difuso de células grandes B	0	1	
Linfoma folicular	0	1	
Linfoma de células NK	0	1	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Chan JK, et al. A proposal for classification of lymphoid neoplasms (by the International Lymphoma Study Group). Histopathology 1994; 25:517-36.
2. Kasaian MT, et al. CD5+ B lymphocytes. Proc Soc Exp Bio and Med. 1991; 197:226-4.1
3. Jones NH, et al. Isolation of complementary DNA clones encoding the human lymphocyte glycoprotein T1/Leu-1. Nature 1986; 323:346-9.
4. Tan SH, et al. Cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides in Singapore: a clinicopathological analysis using recent classification systems. Br J Dermatol. 2003; 149:542-53.
5. Chang CC, et al. CD5+ T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma. Mod Pathol. 2002; 15:1051-7.

6. Hatano B, et al. Peripheral T-cell lymphoma with a nodular growth pattern. Pathol Int. 2002; 52: 400–5.

7. West RB, et al. The usefulness of immunohistochemistry in the diagnosis of follicular lymphoma in bone marrow biopsy specimens. Am J Clin Pathol. 2002; 117:636–43.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 19 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD56 (MRQ-42) Rabbit Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
156R-94	0,1 ml concentrado
156R-95	0,5 ml concentrado
156R-96	1,0 ml concentrado
156R-97	1,0 ml prediluído listo para usar
156R-98	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CD56 (MRQ-42) Rabbit Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio para la detección de la proteína CD56 en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina, teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

La CD56, también conocida por ser una molécula de adhesión celular neural (NCAM), es una proteína de adhesión homofílica independiente del calcio que pertenece a un grupo de moléculas de adhesión celular, incluidas las cadherinas, selectinas e integrinas.[1-3] La CD56 interviene en la adhesión entre células de las células neurales durante la embriogénesis y se expresa en la mayoría de tejidos de origen neuroectodérmico.[1-3] En tejido normal, el anti-CD56 marca neuronas, glía, células de Schwann, células NK (células citotóxicas naturales) y un subconjunto de linfocitos T.[3] Se puede observar la expresión de CD56 en la mayoría de neoplasias de células NK[4] y se suele usar para identificar neoplasias con diferenciación neuroendocrina.[5,6]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3–7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	conejo
Isotipo	IgG_1
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween® 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10
5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Neuroblastoma	Citoplasmática, Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	3	3	Neuronas +; neurogliocitos +
Cerebelo	3	3	Neuronas +; neurogliocitos +
Glándula adrenal	3	3	Corteza +; 2/2 médula +
Ovarios	3	3	Estroma +
Páncreas	3	3	células de islotes +
Paratiroides	0	3	
Pituitaria	3	3	Adenohipófisis +; neurohipófisis +
Testículos	3	4	3/3 células de Leydig +
Tiroides	3	3	Epitelio folicular +
Pecho	3	3	Conductos +
Bazo	3	3	Pulpa roja +
Amígdalas	8	8	Células interfoliculares + en linfocitos citolíticos dispersos
Timo	0	3	
Médula ósea	0	3	
Pulmones	2	3	Bronquiolos + en la superficie ciliar
Corazón	0	3	
Esófago	0	3	
Estómago	3	3	Mucosa +
Intestino delgado	0	3	Células neuroendocrinas +
Colon	0	3	Células neuroendocrinas +
Hígado	0	3	
Glándula salival	0	3	
Vesícula biliar	0	3	
Riñones	0	3	
Vejiga	0	1	
Próstata	3	3	Estroma +
Útero	3	3	Estroma endometrial, linfocitos citolíticos +
Trompas de Falopio	3	3	Epitelio + en la superficie ciliar

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Uréter	0	3	
Cérvix	3	3	Estroma +
Músculos del esqueleto	0	3	
Músculo liso	3	3	Células del músculo liso débiles
Piel	0	3	
Nervios periféricos	3	3	Fibras nerviosas +; células ganglionares +
Revestimiento mesotelial	0	3	
Placenta	0	3	
Ganglio linfático	3	3	células NK +

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Tumor carcinoide	15	15	
Carcinoma medular tiroideo	9	9	
Linfoma de células NK	7	7	
Carcinoma de pulmón de células pequeñas	7	7	
Neuroblastoma	4	4	
Tumor neuroendocrino pancreático	3	3	
Rabdomiosarcoma	2	2	
Linfoma difuso de células grandes B	1	15	Débil, Focal
Linfoma periférico de células T NOS	1	4	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de

manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.

3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Walmod, Peter S et al. "Zippers make signals: NCAM-mediated molecular interactions and signal transduction." *Neurochemical research* vol. 29,11 (2004): 2015-35.
2. Skog, Maria S et al. "Expression of neural cell adhesion molecule and polysialic acid in human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells." *Stem cell research & therapy* vol. 7,1 113. 15 Aug. 2016.
3. Cohavy, Offer, and Stephan R Targan. "CD56 marks an effector T cell subset in the human intestine." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* vol. 178,9 (2007): 5524-32.
4. Swerdlow SH, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition. 2008.
5. Kriegsmann, Katharina et al. "Insulinoma-associated Protein 1 (INSM1) in Thoracic Tumors is Less Sensitive but More Specific Compared With Synaptophysin, Chromogranin A, and CD56." *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM* vol. 28,3 (2020): 237-242.
6. Rooper, Lisa M et al. "INSM1 is a Sensitive and Specific Marker of Neuroendocrine Differentiation in Head and Neck Tumors." *The American journal of surgical pathology* vol. 42,5 (2018): 665-671.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 24 May 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD68 (Kp-1) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
168M-94	0,1 ml concentrado
168M-95	0,5 ml concentrado
168M-96	1,0 ml concentrado
168M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
168M-98	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CD68 (Kp-1) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para el uso en la detección de la glicoproteína CD68 en tejido fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El anti-CD68 marca líneas de células de monocitos/macrófagos. Este anticuerpo es capaz de teñir monocitos, células de Kupffer, osteoclastos, granulocitos y sus precursores; los linfomas son negativos o muestran unos pocos gránulos. Este anticuerpo puede ser útil para la identificación de tumores mielomonocíticos e histiocíticos. Sin embargo, por el hecho de que detecta un epítope resistente a la formalina que puede estar asociado a gránulos lisosomales, otras células ricas en lisosomas pueden también teñir.[1-3]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.

8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10

6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Citoplasmática, Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	1	1	
Córtex adrenal	0	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	0	2	
Paratiroides	0	1	
Pituitaria	1	1	
Testículos	0	1	
Tiroides	0	1	
Pecho	0	2	
Bazo	1	1	
Amígdalas	5	5	
Timo	0	1	
Médula ósea	2	2	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	0	1	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	0	1	

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Colon	0	1	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	1	
Vesícula biliar	1	1	
Riñones	0	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	0	2	
Útero	0	2	
Trompas de Falopio	0	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	2	
Músculo liso	0	4	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	0	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Leucemia mieloide aguda	2	2	
Histiocitosis de células de Langerhans	2	2	
Sarcoma de células dendríticas foliculares	1	1	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	21	
Adenocarcinoma de colon	0	23	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Holness CL, et al. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. Blood. 1993; 81:1607-13.
2. Leong A, et al. Manual of Diagnostic Antibodies for Immunohistochemistry. Greenwich Medical Media Ltd. 2003; p.135-6.
3. Lau SK, et al. CD163: a specific marker of macrophages in paraffin-embedded tissue samples. Am J Clin Pathol. 2004; 122:794-801.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 15 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

CD79a (JCB117) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
179M-94	0,1 ml concentrado
179M-95	0,5 ml concentrado
179M-96	1,0 ml concentrado
179M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
179M-98	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CD79a (JCB117) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para el uso en la detección de la proteína CD79a en tejido fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

La CD79 es una proteína de transmembrana dimérica con dos cadenas de componentes diferentes: CD79a y CD79b.[1-3] CD79a se expresa en células B desde la fase pro-B hasta la fase de diferenciación de células B.[2] CD79a es útil como marcador en neoplasias de células B.[1-3]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10

6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Amígdalas	Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	1	
Córtex adrenal	0	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	0	2	
Paratiroides	0	1	
Pituitaria	0	1	
Testículos	0	1	
Tiroides	0	1	
Pecho	0	2	
Bazo	1	1	
Amígdalas	1	1	
Timo	1	1	
Médula ósea	0	1	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	0	1	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	0	1	

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Colon	0	1	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	1	
Vesícula biliar	0	1	
Riñones	0	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	0	2	
Útero	0	2	
Trompas de Falopio	0	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	1	
Músculo liso	0	4	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	0	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma folicular	1	1	
Tumor miofibroblástico inflamatorio	1	1	
Plasmacitoma	1	1	
linfoma linfocítico pequeño	1	1	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	13	
Adenocarcinoma de colon	0	11	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Mason DY, et al. CD79a: a novel marker for B-cell neoplasms in routinely processed tissue samples. Blood. 1995; 86:1453-9.
2. Bhargava P, et al. CD79a is heterogeneously expressed in neoplastic and normal myeloid precursors and megakaryocytes in an antibody clone-dependent manner. Am J Clin Pathol. 2007; 128:306-13.
3. Chu PG, et al. CD79: a review. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2001; 9:97-106.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 15 Sep 2023

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

CD99 (EPR3097Y) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
199R-14	0,1 ml concentrado
199R-15	0,5 ml concentrado
199R-16	1,0 ml concentrado
199R-17	1,0 ml prediluído listo para usar
199R-18	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

El CD99 (EPR3097Y) Rabbit Monoclonal Primary Antibody está diseñado para utilizarse en un laboratorio para detectar la proteína CD99 en tejidos embebidos en parafina, fijados con formalina y teñidos en inmunohistoquímica cualitativa (IHC).

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El CD99, detectado con varios anticuerpos, se expresa en casi todos los sarcomas de Ewing y en los tumores neuroectodérmicos primitivos periféricos (ES/PNET) y demuestra tinción membranosa fuerte y difusa[1-4]. Otros tumores que pueden mostrar expresión del CD99 son los carcinomas neuroendocrinos, los condrosarcomas mesenquimales, los tumores fibrosos solitarios, los sarcomas sinoviales, los tumores vasculares, los tumores de células pequeñas, redondas y azules,el linfoma linfoblástico, la leucemia mieloide aguda y el sarcoma mieloide[5].

Sin embargo, la reactividad membranosa difusa y fuerte del CD99 favorece el ES/PNET frente a las otras consideraciones de diagnóstico[5]. Los otros tumores del CD99+ normalmente muestran tinción citoplásmica y más heterogénea. Por lo tanto, al realizar una interpretación diagnóstica final, hay que considerar al CD99 en un grupo con otros anticuerpos.[4-5]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	conejo
Isotipo	IgG
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween® 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 9540-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Sarcoma de Ewing	Membranoso
Páncreas	Membranoso

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	1	1	Astrocitos dispersos +
Córtex adrenal	1	1	
Ovarios	1	1	folículos +, Estromas +
Páncreas	1	1	exocrino +, Endocrino +
Paratiroides	0	1	

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Pituitaria	0	1	
Testículos	1	1	Células de Sertoli +
Tiroides	0	1	
Pecho	2	2	Conductos difusos +, Acini +
Bazo	1	1	
Amígdalas	1	1	
Timo	1	1	
Médula ósea	1	1	Precursores de glóbulos blancos +
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	0	1	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	1	1	
Colon	1	1	
Hígado	1	1	sinusoides +
Glándula salival	1	1	
Vesícula biliar	1	1	
Riñones	1	1	
Vejiga	1	1	
Próstata	0	2	
Útero	2	2	Células endometriales
Trompas de Falopio	1	1	
Uréter	1	1	
Cérvix	1	1	Epitelio endocervical +
Músculos del esqueleto	0	1	
Músculo liso	0	3	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	1	1	Células estromales +

Este producto anticuerpo marca una variedad de componentes celulares normales como las células epiteliales columnares, fibroblastos, astrocitos, células del ovario dispersas y sinusoides hepáticos.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma de colon	14	19	
Linfoma linfoblástico	9	9	
Sarcoma de Ewing	6	6	
Rabdomiosarcoma	6	6	
Carcinoma ductal invasivo de mama	4	23	
Leiomiosarcoma	3	3	
Sarcoma sinovial	3	4	
Dermatofibrosarcoma protuberans	2	2	
Tumor del timo	2	5	
Fibrosarcoma	1	1	
Tumor de célula granular	1	1	
Dermatofibroma	0	8	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

Bibliografía

1. Rettig, WJ, et al. Ewing's sarcoma: new approaches to histogenesis and molecular plasticity. Lab Invest 1992;66:133.
2. Fellinger, EJ, et al., Comparison of cell surface antigen HBA71 (p30/32MIC2), neuron-specific enolase, and vimentin in the immunohistochemical analysis of Ewing's sarcoma of bone. Amer J Surg Pathol 1992;16:746.
3. Ambros, IM, et al., MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. Evidence for a common histogenesis of Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration Cancer 1991;139:317.
4. Khoury JD. Ewing sarcoma family of tumors. Adv Anat Pathol. 2005;12:212–20.
5. Dabbs,DJ, Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and Genomic Applications. 2014. pp126.

Limitaciones de Responsabilidad

Cell Marque es el fabricante legal de los anticuerpos de diagnóstico *in vitro* de la marca Cell Marque + RabMAb. Cell Marque utiliza la tecnología RabMAb de Abcam PLC para esta marca. La tecnología monoclonal de conejo está patentada y RabMAb es una marca registrada de Abcam PLC.

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 15 Sep 2023

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

CDX-2 (EPR2764Y) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
235R-14	0,1 ml concentrado
235R-15	0,5 ml concentrado
235R-16	1,0 ml concentrado
235R-17	1,0 ml prediluído listo para usar
235R-18	7,0 ml prediluído listo para usar
235R-10	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

CDX-2 (EPR2764Y) Rabbit Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio para la detección de la proteína CDX-2 en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina, teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

CDX-2 es un factor de transcripción de homeosecuencia relacionado con el caudal que desempeña un papel en el desarrollo y mantenimiento de la mucosa intestinal. Esta proteína se expresa en el epitelio gastrointestinal normal y neoplásico, donde se incluye el adenocarcinoma colorrectal. Es útil para identificar el origen gastrointestinal de las lesiones benignas y malignas.[1-7]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	conejo
Isotipo	IgG
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.

8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10

5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
5. Enjuague con agua DI
6. Lave con tampón TBST (minutos): 5
7. Tiempo de incubación del amplificador de detección AP HiDef (minutos): 10
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección AP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Enjuague con agua DI
14. Tiempo de incubación de rojo permanente (minutos): 15-30
15. Enjuague con agua DI
16. Aplique contratinción con hematoxilina
17. Enjuague con agua DI
18. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Colon	Nuclear

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el

prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son

responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	0	3	
Ovarios	0	3	
Páncreas	3	3	Conductos +
Paratiroides	0	3	
Pituitaria	0	3	
Testículos	0	3	
Tiroides	0	3	
Pecho	0	3	
Bazo	0	3	
Amígdalas	2	3	Células del centro germinativo; 1/3 células del manto +
Timo	0	3	
Médula ósea	0	4	
Pulmones	0	3	
Corazón	0	3	
Esófago	0	3	
Estómago	0	3	
Intestino delgado	3	3	Mucosa +
Colon	3	3	Mucosa +
Hígado	0	3	
Glándula salival	0	3	
Vesícula biliar	1	3	Mucosa débil, focal
Riñones	0	3	
Vejiga	1	1	Urotelio, débil, poco frecuente
Próstata	1	3	Epitelio, débil, focal
Útero	0	3	
Trompas de Falopio	0	3	Epitelio, débil, poco frecuente

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Uréter	3	4	Urotelio, débil, poco frecuente
Cérvix	1	3	Glándulas endocervícales, débil, focal
Músculos del esqueleto	0	3	
Músculo liso	0	3	
Piel	0	3	
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	0	3	
Placenta	0	3	
Apéndice	8	8	Mucosa +

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma colorrectal	31	32	
Carcinoma de ovarios mucinoso	6	6	
Carcinoma estomacal de tipo intestinal	5	5	
Tipo difuso de carcinoma de estómago	4	5	
Carcinoma de pulmón de células escamosas	2	9	
Adenoma tubular, colon	1	1	
Adenocarcinoma pulmonar	1	9	
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	23	
Carcinoma endometrioide de ovario	0	4	
Carcinoma seroso de ovario	0	5	

Uno de los nueve adenocarcinomas de pulmón analizados reaccionó débilmente en áreas focales que mostraban diferenciación intestinal.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.

CELL MARQUE

RabMAb®
Technology from Abcam

2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Mazziotta, Robert M et al. "CDX2 immunostaining as a gastrointestinal marker: expression in lung carcinomas is a potential pitfall." *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM* vol. 13,1 (2005): 55–60.
2. Erickson, Lori A et al. "Cdx2 as a marker for neuroendocrine tumors of unknown primary sites." *Endocrine pathology* vol. 15,3 (2004): 247–52.
3. Saqi, Anjali et al. "Usefulness of CDX2 and TTF-1 in differentiating gastrointestinal from pulmonary carcinoids." *American journal of clinical pathology* vol. 123,3 (2005): 394–404.
4. Saad, Reda S et al. "Usefulness of Cdx2 in separating mucinous bronchioloalveolar adenocarcinoma of the lung from metastatic mucinous colorectal adenocarcinoma." *American journal of clinical pathology* vol. 122,3 (2004): 421–7.
5. Kaimaktchiev, Vassil et al. "The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas." *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* vol. 17,11 (2004): 1392–9.
6. Werling, Robert W et al. "CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas." *The American journal of surgical pathology* vol. 27,3 (2003): 303–10.
7. Moskaluk, Christopher A et al. "Cdx2 protein expression in normal and malignant human tissues: an immunohistochemical survey using tissue microarrays." *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* vol. 16,9 (2003): 913–9.

Limitaciones de Responsabilidad

Cell Marque es el fabricante legal de los anticuerpos de diagnóstico *in vitro* de la marca Cell Marque + RabMAb. Cell Marque utiliza la tecnología RabMAb de Abcam PLC para esta marca. La tecnología monoclonal de conejo está patentada y RabMAb es una marca registrada de Abcam PLC.

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 24 May 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Cyclin D1 (SP4) Rabbit Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
241R-14	0,1 ml concentrado
241R-15	0,5 ml concentrado
241R-16	1,0 ml concentrado
241R-17	1,0 ml prediluído listo para usar
241R-18	7,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

Cyclin D1 (SP4) Rabbit Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio para la detección de la proteína ciclina D1 en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina, teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

Las ciclinas son proteínas que gobiernan las transiciones a través de distintas fases del ciclo celular regulando la actividad de las quinasas dependientes de ciclina.[1] La ciclina D1, uno de los reguladores clave del ciclo celular, es un protoncogén putativo que se encuentra en una amplia variedad de neoplasias humanas. Este anticuerpo es útil para identificar los linfomas de células del manto (ciclina D1 positiva).[2]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	conejo
Isotipo	IgG
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C

4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10

5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Linfoma de célula del manto	Nuclear

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de

la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.º Teñido (+)	N.º Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	1	3	Médula +
Ovarios	0	3	
Páncreas	3	4	2/4 conductos +
Paratiroides	4	4	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Pituitaria	1	3	Adenohipófisis +
Testículos	0	3	
Tiroides	0	3	
Pecho	3	3	Conductos +; lobulillos +
Bazo	3	3	Pulpa roja +
Amígdalas	3	3	Epitelio escamoso +
Timo	0	3	
Médula ósea	0	3	
Pulmones	3	3	Bronquiolos +
Corazón	0	3	
Esófago	3	3	Epitelio escamoso +
Estómago	3	3	Mucosa +
Intestino delgado	3	3	Mucosa +
Colon	3	3	Mucosa +
Hígado	0	3	
Glándula salival	3	3	Células de los conductos +; ácinos +
Vesícula biliar	3	3	Mucosa +
Riñones	3	3	Glomérulos +; túbulos +; conductos colectores +
Vejiga	1	1	Urotelio +
Próstata	3	3	Epitelio +; 2/3 estroma +
Útero	0	3	
Trompas de Falopio	3	3	Epitelio +
Uréter	3	3	Urotelio +
Cérvix	2	3	Glándulas endocervicales+; estroma +; 1/1 epitelio pavimentoso +
Músculos del esqueleto	0	3	
Músculo liso	0	3	
Piel	3	3	Epidermis +; 2/2 glándulas sudoríparas +; 1/1 glándulas sebáceas +
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	0	3	
Placenta	0	3	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Linfoma de célula del manto	11	11	
Carcinoma de mama metastásico	8	9	
Carcinoma ductal in situ de mama	6	6	
Carcinoma ductal invasivo de mama	6	6	1/6 poco frecuentes; 2/6 dispersas
Adenocarcinoma colorrectal	6	6	
Leucemia de células pilosas	4	7	2/4 dispersas
Mieloma de células de plasma	4	6	
Carcinoma de células escamosas metastásico	3	3	
Linfoma difuso de células grandes B	1	6	Débil
Tipo difuso de carcinoma de estómago	1	1	
Carcinoma epidermoide de células escamosas	1	1	
linfoma linfocítico pequeño	1	8	Débil, poco frecuente
Linfoma de Burkitt	0	4	
Fibromatosis	0	1	
Linfoma folicular	0	6	
Leiomioma	0	2	
Linfoma de zona marginal	0	5	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.

4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Bartkova, J et al. "Abnormal patterns of D-type cyclin expression and G1 regulation in human head and neck cancer." *Cancer research* vol. 55,4 (1995): 949-56.
2. Hankin, R C, and S V Hunter. "Mantle cell lymphoma." *Archives of pathology & laboratory medicine* vol. 123,12 (1999): 1182-8.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 30 Nov 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Cytokeratin 20 (Ks20.8) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
320M-14	0,1 ml concentrado
320M-15	0,5 ml concentrado
320M-16	1,0 ml concentrado
320M-17	1,0 ml prediluído listo para usar
320M-18	7,0 ml prediluído listo para usar
320M-10	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

Cytokeratin 20 (Ks20.8) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio en la detección de la proteína citoqueratina 20 en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

La citoqueratina 20 es una proteína de filamento intermedio de 46 kDa que reacciona principalmente con el epitelio gástrico e intestinal, el urotelio y las células de Merkel[1-4]. El anticuerpo contra la citoqueratina 20 es útil para identificar tipos específicos de estas células epiteliales en condiciones normales, hiperplásicas y neoplásicas[3]. La citoqueratina 20 se ha detectado en distintos adenocarcinomas, incluidos los de colon y estómago[5-7]. Los carcinomas de células de Merkel han mostrado reactividad. Por el contrario, los carcinomas de la mama no suelen ser reactivos.

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_{2a}/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:200-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53–65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2–8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53–65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10
5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10–30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1–10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10–30
5. Enjuague con agua DI
6. Lave con tampón TBST (minutos): 5
7. Tiempo de incubación del amplificador de detección AP HiDef (minutos): 10
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección AP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Enjuague con agua DI
14. Tiempo de incubación de rojo permanente (minutos): 15–30
15. Enjuague con agua DI
16. Aplique contratinción con hematoxilina
17. Enjuague con agua DI
18. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Carcinoma de colon	Citoplasmática

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

(citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.

15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	0	3	
Ovario	0	3	
Páncreas	0	3	
Paratiroides	0	3	
Pituitaria	3	3	Adenohipófisis débil
Testículos	0	3	
Tiroides	0	3	
Pecho	0	3	
Bazo	0	3	
Amígdalas	0	3	
Timo	0	3	
Médula ósea	0	3	
Pulmones	0	3	
Corazón	0	3	
Esófago	0	3	
Estómago	11	11	Epitelio de mucosas +
Intestino delgado	12	12	Epitelio de mucosas +
Colon	12	12	Epitelio de mucosas +

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Hígado	0	3	
Glándula salival	0	3	
Vesícula biliar	0	3	
Riñones	0	3	
Vejiga	4	4	Células en paraguas uroteliales débiles
Próstata	0	3	
Útero	0	3	
Trompas de Falopio	0	3	
Uréter	3	3	Urotelio +
Cérvix	0	3	
Músculos del esqueleto	0	3	
Músculo liso	0	3	
Piel	0	3	
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	0	3	
Placenta	0	3	
Apéndice	8	8	Epitelio de mucosas +

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma colorrectal	14	16	
Carcinoma urotelial	5	6	
Tipo difuso de carcinoma de estómago	4	6	
Carcinoma estomacal de tipo intestinal	4	8	
Carcinoma gástrico metastásico	3	3	
Adenocarcinoma pulmonar	2	9	0/7 convencionales, 2/2 de tipo entérico, débiles, focales o en células poco frecuentes
Carcinoma de células de Merkel	1	1	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Carcinoma ductal invasivo de mama	0	5	
Carcinoma de próstata	0	6	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Moll R, et al. Identification of protein IT of the intestinal cytoskeleton as a novel type 1 cytokeratin with unusual properties and expression patterns. J Cell Biol. 1990; 111:567-80.
2. Moll R, et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell. 1982; 31:11-24.
3. Han AC, Duszak R Jr. Coexpression of cytokeratins 7 and 20 confirms urothelial carcinoma presenting as an intrarenal tumor. Cancer. 1999; 86:2327-30.
4. Moll R, et al. Cytokeratin 20 in human carcinomas: a new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. AJP. 1992; 140:427-47.
5. Tot T. Adenocarcinomas metastatic to the liver: the value of cytokeratins 20 and 7 in search for unknown primary tumors. Cancer 1999; 85:171-7.
6. Lau SK, et al. Comparative immunohistochemical profile of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, and metastatic adenocarcinoma. Hum Pathol. 2002; 33:1175-81.
7. Rullier A et al. Cytokeratin 7 and 20 expression in cholangiocarcinomas varies along the biliary tract but still differs from that in colorectal carcinoma metastasis. Am J Surg Pathol. 2000; 24:870-6.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 28 Aug 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Cytokeratin 7 (OV-TL 12/30) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
307M-94	0,1 ml concentrado
307M-95	0,5 ml concentrado
307M-96	1,0 ml concentrado
307M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
307M-98	7,0 ml prediluído listo para usar
307M-90	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

Cytokeratin 7 (OV-TL 12/30) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio en la detección de la proteína citoqueratina 7 en tejido humano fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

El anticuerpo anticitoqueratina 7 reacciona con proteínas que se encuentran en la mayoría de las células epiteliales ductales, glandulares, de transición y de las vías biliares. El etiquetado de la citoqueratina 7 (CK7) puede ayudar a distinguir entre los carcinomas de pulmón,[1] de mama y los carcinomas uroteliales que suelen tener una tinción positiva, y los carcinomas de colon y próstata que suelen carecer de expresión de CK7.[2-7] CK7 es un marcador frecuente de los adenocarcinomas primarios de pulmón y se observa en otros carcinomas primarios de pulmón y carcinomas no pulmonares.[1] El anticuerpo anticitoqueratina 7 también ha sido útil en el diagnóstico diferencial de las neoplasias ováricas.[8]

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond Antibody Diluent.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween® 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40–400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2–8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 9540-20)

1. Técnica de recuperación de epítopos: HIER en una olla a presión. Temperatura de la olla a presión (°C): 110. Tiempo de la olla a presión (minutos): 15. Reactivo de recuperación de epítopos: Trilogy
2. Enjuague con agua DI
3. Enjuague con tampón TBST
4. Tiempo de incubación de bloque de peróxido (minutos): 10
5. Enjuague con agua DI
6. Enjuague con tampón TBST
7. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
8. Enjuague con agua DI
9. Lave con tampón TBST (minutos): 5
10. Tiempo de incubación del amplificador de detección HRP HiDef (minutos): 10
11. Enjuague con agua DI
12. Lave con tampón TBST (minutos): 5
13. Tiempo de incubación del detector de polímeros de detección HRP HiDef (minutos): 10
14. Enjuague con agua DI
15. Lave con tampón TBST (minutos): 5
16. Enjuague con agua DI
17. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
18. Enjuague con agua DI
19. Aplique contratinción con hematoxilina
20. Enjuague con agua DI
21. Deshidrate y cubra el portaobjetos

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Adenocarcinoma pulmonar	Citoplasmática
Glándula salival	Citoplasmática

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los

resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	0	3	
Cerebelo	0	3	
Glándula adrenal	0	3	
Ovarios	3	4	3/3 serosa +
Páncreas	3	3	Conductos +
Paratiroides	2	3	Débil/moderada, focal
Pituitaria	3	3	Adenohipófisis, débil, dispersa
Testículos	0	3	
Tiroides	3	3	Epitelio folicular, débil/moderado
Pecho	3	3	Conductos +; lobulillos +; células mioepiteliales +
Bazo	0	3	
Amígdalas	3	3	Epitelio pavimentoso +, disperso
Timo	3	3	Epitelio medular +
Médula ósea	0	3	
Pulmones	5	5	Alvéolos +; 2/2 bronquios +; 2/2 bronquiolos +
Corazón	0	3	
Esófago	2	3	Epitelio pavimentoso, débil, disperso en las capas basales
Estómago	3	3	Mucosa, débil, en glándulas poco frecuentes
Intestino delgado	0	3	
Colon	0	3	
Hígado	5	5	Conductos biliares +
Glándula salival	4	4	Células de los conductos +; ácinos +; células mioepiteliales +
Riñones	3	3	Conductos colectores +; túbulos +, en los túbulos distales
Vejiga	3	3	Epitelio de mucosas +

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Próstata	1	3	Epitelio, débil, disperso; células basales +
Útero	3	3	Epitelio endometrial +
Trompas de Falopio	3	3	Epitelio de mucosas +
Uréter	3	3	Epitelio de mucosas +
Cérvix	3	3	Glándulas endocervicales +; 1/3 epitelio pavimentoso, débil, disperso
Músculos del esqueleto	0	3	
Piel	3	3	Glándula sebácea, débil/moderada; 2/3 glándulas sudoríparas +; 1/2 folículo piloso, débil
Nervios periféricos	0	3	
Revestimiento mesotelial	4	4	Células mesoteliales +, dispersas
Vesícula seminal	1	1	Epitelio +
Ganglio linfático	0	7	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Adenocarcinoma pulmonar	16	16	
Carcinoma ductal invasivo de mama	11	12	
Adenocarcinoma ductal de páncreas	10	10	
Carcinoma de células renales cromófobas	9	9	8/9 difuso; 1/9 focal
Tipo difuso de carcinoma de estómago	8	9	5/9 difuso; 1/9 focal; 1/9 disperso; 1/9 en células poco frecuentes
Carcinoma gástrico, tipo intestinal	8	9	6/9 difuso; 1/9 focal; 1/9 en células poco frecuentes
Colangiocarcinoma intrahepático	8	8	
Carcinoma seroso de ovario de grado alto	6	6	

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Mesotelioma	6	6	
Carcinoma papilar de tiroides	6	6	
Carcinoma urotelial	5	6	
Carcinoma de células renales de células claras	4	9	1/9 disperso; 3/9 en células poco frecuentes
Adenocarcinoma colorrectal	1	14	
Cáncer de endometrio	1	1	
Carcinoma hepatocelular	1	6	Focal
Oncocitoma renal	1	9	Dispersas
Carcinoma de próstata	0	6	

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Jerome Marson, V et al. "Expression of TTF-1 and cytokeratins in primary and secondary epithelial lung tumours: correlation with histological type and grade." *Histopathology* vol. 45,2 (2004): 125-34.
2. Murray, Shawn K et al. "Spread of prostate carcinoma to the perirectal lymph node basin: analysis of 112 rectal resections over a 10-year span for primary rectal adenocarcinoma." *The American journal of surgical pathology* vol. 28,9 (2004): 1154-62.
3. Chu, P et al. "Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases." *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* vol. 13,9 (2000): 962-72.
4. Logani, Sanjay et al. "Immunoprofile of ovarian tumors with putative transitional cell (urothelial) differentiation using novel urothelial markers: histogenetic and diagnostic implications." *The American journal of surgical pathology* vol. 27,11 (2003): 1434-41.
5. Ramalingam, Preetha et al. "Invasive micropapillary carcinoma of the breast metastatic to the urinary bladder and endometrium: diagnostic pitfalls and review of the literature of tumors with micropapillary features." *Annals of diagnostic pathology* vol. 7,2 (2003): 112-9.
6. Roy, Somak, and Anil V Parwani. "Adenocarcinoma of the urinary bladder." *Archives of pathology & laboratory medicine* vol. 135,12 (2011): 1601-5.
7. Han, A C, and R Duszak Jr. "Coexpression of cytokeratins 7 and 20 confirms urothelial carcinoma presenting as an intrarenal tumor." *Cancer* vol. 86,11 (1999): 2327-30.
8. McCluggage, W G, and N Wilkinson. "Metastatic neoplasms involving the ovary: a review with an emphasis on morphological and immunohistochemical features." *Histopathology* vol. 47,3 (2005): 231-47.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 19 Sep 2023

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Chromogranin A (LK2H10) Mouse Monoclonal Antibody

Para Diagnóstico In Vitro (IVD)

Identificación del Producto

REF	Descripción
238M-94	0,1 ml concentrado
238M-95	0,5 ml concentrado
238M-96	1,0 ml concentrado
238M-97	1,0 ml prediluído listo para usar
238M-98	7,0 ml prediluído listo para usar
238M-90	25,0 ml prediluído listo para usar

Definiciones de los Símbolos

KEY-CODE	código
P	prediluir
C	concentrado
A	ascitis
E	suero
S	sobrenadante
DIL	rango de dilución del concentrado

Uso Previsto

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

Chromogranin A (LK2H10) Mouse Monoclonal Primary Antibody está diseñado para el uso en la detección de la proteína cromogranina A en tejido fijado con formol e incluido en parafina teñido en una prueba de inmunohistoquímica (IHC) cualitativa.

Los resultados obtenidos con el uso de este producto junto con la historia clínica relevante del paciente, otras pruebas diagnósticas y controles adecuados debe interpretarlos un patólogo cualificado.

Resumen y Explicación

Los métodos inmunohistoquímicos han localizado la cromogranina en una amplia variedad de tejidos endócrinos incluyendo pituitaria, páncreas, tiroides y paratiroides.[1-3] Las células neuroendócrinas muestran una fina y granular inmunorreactividad con la cromogranina.[1-3] En general es aceptado que la coexpresión de ciertas queratinas y cromogranina está relacionada con un linaje neuroendócrino. La presencia de una tinción fuerte con cromogranina y la ausencia de tinción con queratina podría indicar la posibilidad de un paraganglioma. La coexpresión de cromogranina y EEN es típica de las neoplasias neuroendócrinas.

Principios y Procedimientos

El anticuerpo primario indicado puede utilizarse como anticuerpo primario para la tinción inmunohistoquímica de cortes de tejido fijado con formol y embebido en parafina. En general, la tinción inmunohistoquímica junto con el sistema de detección mediante unión con peroxidasa de rábano (HRP) o fosfatasa alcalina permite la visualización de antígenos a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico (anticuerpo primario) al antígeno, un anticuerpo secundario (anticuerpo de unión) al anticuerpo primario, un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con etapas de lavado intermedias. La activación enzimática del cromógeno da lugar a un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. La muestra puede entonces contrateñirse y aplicarse un cubreportaobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico.

Materiales y Métodos

Reactivos Suministrados

Composición del Producto	
Prediluir: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Concentrado: diluido en	Amortiguador Tris, pH 7,3-7,7, con un 1% de BSA y <0,1% de azida de sodio
Host	ratón
Isotipo	IgG_1/k
Intervalo de dilución de trabajo recomendado	1:100-1:500
Fuente	sobrenadante

Vea la etiqueta del producto para información específica sobre el lote acerca de lo siguiente:

1. Concentración de anticuerpos de inmunoglobulina
2. Detalles de la fuente

Reconstitución, Mezcla, Dilución y Titulación

El anticuerpo prediluído está listo para usar y optimizado para la tinción. El anticuerpo concentrado está optimizado para diluirlo en el rango de dilución con Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH® company

Materiales y Reactivos Necesarios No Suministrados

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se incluyen con el anticuerpo primario:

1. Tejido de control positivo y negativo
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 53-65 °C
4. Cubetas o baños de tinción
5. Cronómetro
6. Xileno o sustituto de xileno
7. Alcohol reactivo o etanol

   Nota: El tratamiento previo de un paso de Cell Marque, Trilogy™ (N.º de catálogo 920P-06), puede sustituir los elementos de los puntos 6 y 7 anteriores.
8. Agua desionizada o destilada
9. Equipo de calentamiento, como la olla de presión eléctrica para el paso del tratamiento previo del tejido
10. Sistema de detección como HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20) o HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)
11. Cromógeno, como DAB Substrate Kit (N.º de catálogo 957D-20) o Permanent Red Chromogen Kit (N.º de catálogo 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween® 20 (N.º de catálogo 935B-09)
13. Hematoxylin u otra contratinción
14. Diluyentes de anticuerpo, como Diamond: Antibody Diluent (N.º de catálogo 938B-05) o Emerald: Antibody Diluent (N.º de catálogo 936B-08)
15. Peroxide Block (N.º de catálogo 925B-05) para usar con HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents para usar con detección con estreptavidina-biotina
17. Negative Control Reagent (N.º de catálogo 939B-02 para universal)
18. Mounting Medium
19. Cubreobjetos
20. Microscopio óptico (40-400x)

Conservación y Manipulación

Almacenar a 2-8 °C. No congelar.

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

Todos los reactivos de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. El reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta siempre que se almacene 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. Contacte con el servicio técnico de Cell Marque si tiene sospechas sobre la inestabilidad del reactivo.

Extracción y Preparación de la Muestra para su Análisis

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados en formol en tampón neutro y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con los kits de detección de Cell Marque (consulte la sección Materiales y reactivos necesarios no suministrados). Nota: Cell Marque evalúa el resultado solo en tejidos humanos. El fijador de tejido recomendado es formalina tamponada neutral 10%. Pueden tener lugar resultados variables como consecuencia de una fijación prolongada o procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Cada sección debe cortarse con el grosor apropiado (aproximadamente 3 µm) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos que contienen el corte de tejido pueden secarse durante al menos 2 horas (pero no más de 24 horas) en un horno a una temperatura de 53-65 °C.

Advertencias y Precauciones

1. Adopte las precauciones adecuadas cuando se manipulen los reactivos. Usar guantes y batas de laboratorio desechables cuando se manipulen materiales potencialmente carcinógenos o tóxicos (como xileno).
2. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si se produce el contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante.
3. 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.
4. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían producirse resultados incorrectos.
5. El usuario debe validar los tiempos y temperaturas de incubación.
6. Los reactivos prediluidos listos para usar están diluidos óptimamente por lo que una dilución adicional podría producir la pérdida de tinción del antígeno.
7. Los reactivos concentrados pueden diluirse óptimamente en base a la determinación del usuario. El usuario deberá validar igualmente tanto la compatibilidad como el efecto en la estabilidad de cualquier disolvente utilizado que no esté recomendado específicamente en este documento.
8. Este producto no se clasifica como sustancia peligrosa cuando se usa según las instrucciones. El conservante del reactivo es inferior al 0,1% de acida sódica y no cumple los criterios de la OSHA para sustancias peligrosas a la concentración indicada. Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales.
9. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no sea una de las especificadas en el prospecto.
10. El disolvente puede incluir albúmina de suero bovino y el sobrenadante puede contener suero bovino. Los productos que contienen suero fetal bovino y los productos que contienen albúmina de suero bovino se compran a los proveedores comerciales. Los certificados de origen de la fuente animal utilizada en estos productos obran en el archivo de Cell Marque. Los certificados aseguran que las fuentes bovinas provienen de países con riesgo mínimo de BSE y relacionan como fuentes de bovinos EE. UU. y Canadá.
11. Como con cualquier producto proveniente de fuentes biológicas, deberán emplearse procedimientos de manipulación apropiados.

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Instrucciones de Uso

Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario indicado:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (N.º de catálogo 954D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de DAB (minutos): 1-10
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (N.º de catálogo 962D-20)

1. Técnica de recuperación del epítopo: HIER, Reactivo para la recuperación del epítopo: Trilogy
2. Tiempo de incubación de anticuerpo (minutos): 10-30
3. Tiempo de incubación de HiDef Detection Amplifier (minutos): 10
4. Tiempo de incubación de HiDef Detection Polymer Detector (minutos): 10
5. Tiempo de incubación de Permanent Red (minutos): 15-30
6. Deshidrate y cubra el portaobjetos.

Procedimientos de Control de Calidad

Control de Tejido Positivo

Cada vez que se realice el procedimiento de tinción, debe procesarse un control positivo del tejido. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. 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. El uso de un corte de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio servirá para el control de todos los reactivos y pasos del método excepto la fijación y el procesamiento del tejido.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado para un control de calidad óptimo y para detectar niveles pequeños de degradación del reactivo. El control de tejido positivo para el anticuerpo primario indicado puede incluir lo siguiente:

Control de Tejido Positivo	
Tejido	Visualización
Páncreas	Citoplasmática

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

Control de Tejido Negativo

El mismo tejido utilizado para el control de tejido positivo se puede utilizar en el control de tejido negativo. La variedad de tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejidos ofrece sitios de control negativo internos, pero esto debe verificarlo el usuario. Los componentes que no se tiñen deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo no específica. Si se produce una tinción específica en los sitios de control de tejido negativo, los resultados obtenidos con las muestras del paciente deben considerarse no válidas.

Discrepancias Inexplicables

Las discrepancias inexplicables de los controles deben remitirse de inmediato al servicio técnico de Cell Marque. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Véase la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema; a continuación, repita todo el procedimiento con las muestras del paciente.

Reactivo de Control Negativo

Se debe utilizar un reactivo de control negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica se utiliza un reactivo de control negativo en lugar del anticuerpo primario. Se deberá tratar el portaobjetos con el reactivo de control negativo haciendo coincidir las especies huéspedes del anticuerpo primario e idóneamente con la misma concentración de IgG. El periodo de incubación para el reactivo de control negativo deberá ser igual que el periodo de incubación del anticuerpo primario.

Interpretación de los Resultados

El procedimiento de inmunotinción causa la precipitación de un producto de reacción coloreado en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Consulte en el prospecto correspondiente del sistema de detección las reacciones de color esperadas. Un patólogo cualificado experimentado en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles de tejido positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

Control de Tejido Positivo

El control de tejido positivo teñido debe examinarse primero para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con el color adecuado dentro de las células diana es indicativa de una reactividad positiva. Consulte en el prospecto del sistema de detección utilizado las reacciones de color esperadas. Según sea la duración de la incubación y la potencia de la hematoxilina empleada, la contratinción dará como resultado una coloración azul de pálida a oscura de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Si los controles de tejidos positivos no muestran una tinción positiva apropiada, 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 la marcación específica del antígeno diana por el anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la ausencia de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se produce una tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados obtenidos con la muestra del paciente se consideran no válidos. La tinción no específica, si la hay, tendrá un aspecto difuso. También se puede observar una ligera tinción específica esporádica del tejido conjuntivo en cortes de tejidos que no estén fijados óptimamente. Para la interpretación de los resultados de

la tinción deben usarse células intactas. Las células necróticas o degeneradas muestran una tinción no específica.

Tejido del Paciente

Las muestras del paciente se deben examinar al final. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control de reactivo negativo. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno en cuestión no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado. Un panel de anticuerpos puede ayudar a identificar reacciones negativas falsas (consulte la sección Sumario de resultados esperados). La morfología de cada muestra del tejido también debe examinarse utilizando un corte con tinción de hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de inmunohistoquímica. Un patólogo cualificado debe interpretar los resultados morfológicos del paciente y sus datos clínicos pertinentes.

Limitaciones

1. El color del anticuerpo no afecta lo funcionamiento.
2. Este reactivo es "de exclusivo uso profesional", ya que la inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varias etapas que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos, tejidos, fijación y procesamiento apropiados; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo de laboratorio.
4. Para diagnóstico *in vitro*.
5. La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento 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 resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden ser consecuencia de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, así como de irregularidades inherentes dentro del tejido.
6. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
7. La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología, otros criterios histopatológicos, así como otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está diseñado para utilizarlo en un panel de anticuerpos si fuera pertinente. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con los anticuerpos, reactivos, paneles de diagnóstico y métodos usados para obtener una preparación con tinción. 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.
8. Cell Marque provee anticuerpos y reactivos en una dilución óptima para usar como se indica. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
9. Cell Marque provee los anticuerpos primarios en formato concentrado de manera que el usuario pueda diluirlos después óptimamente para usarlos según determine y observando las técnicas de validación adecuadas. Los usuarios deben validar el uso de cualquier disolvente que no se recomiende en este documento. Una vez que el anticuerpo primario haya sido validado como adecuado para usar, cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios deben asumir en cualquier caso la responsabilidad de la interpretación de los resultados del paciente.
10. Este producto no está diseñado para utilizarlo en citometría de flujo.
11. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no estudiados previamente. No puede excluirse completamente la posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasmas u otros tejidos patológicos. Póngase en contacto con el servicio técnico de Cell Marque si sospecha que ha habido una reacción inesperada documentada.
12. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.
13. Cuando se utilizan en pasos de bloqueo, los sueros normales procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios pueden provocar resultados de falsos negativos o falsos positivos debido al efecto de los autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
14. Pueden verse resultados de falsos positivos debido a la unión de proteínas o productos de reacción del sustrato por mecanismos no inmunológicos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (ejemplo: hígado, cerebro, mama, riñón) dependiendo del tipo de técnica de inmunotinción empleada.
15. Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.
16. Los productos de anticuerpo prediluidos están optimizados como productos listos para usar. Debido a la posibilidad de variaciones en la fijación y procesado del tejido, puede ser necesario aumentar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales.
17. El anticuerpo, en combinación con sistemas de detección y sus accesorios, detecta los antígenos que sobreviven al proceso habitual de fijación con formol, procesado y corte del tejido. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de prueba recomendados son responsables, como lo serían en cualquier caso, de la interpretación y validación de los resultados del paciente.

Sumario de Resultados Esperados

Consulte las siguientes tablas de reactividad:

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Cerebro	1	1	
Córtex adrenal	1	1	
Ovarios	0	1	
Páncreas	4	4	
Paratiroides	1	1	
Pituitaria	1	1	

CELL MARQUE™
a SIGMA-ALDRICH company

Estudio Normal			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Testículos	0	1	
Tiroides	2	2	
Pecho	0	2	
Bazo	0	1	
Amígdalas	0	1	
Timo	0	1	
Médula ósea	0	1	
Pulmones	0	2	
Corazón	0	1	
Esófago	0	1	
Estómago	0	1	
Intestino delgado	0	1	
Colon	0	2	
Hígado	0	1	
Glándula salival	0	1	
Vesícula biliar	0	1	
Riñones	0	1	
Vejiga	0	1	
Próstata	2	2	
Útero	0	2	
Trompas de Falopio	1	1	
Uréter	0	1	
Cérvix	0	1	
Músculos del esqueleto	0	2	
Músculo liso	0	4	
Piel	0	1	
Nervios periféricos	0	1	
Mesotelio	0	1	
Grasa	0	1	
Placenta	0	1	

Este anticuerpo tiñe tejidos normales como está indicado en la literatura.

Estudio de la Enfermedad del Tejido			
Tejido	N.° Teñido (+)	N.° Total	Notas
Tumor carcinoide	1	1	
Carcinoma neuroendocrino de pulmón	1	1	
Carcinoma medular tiroideo	1	1	
Carcinoma neuroendocrino	1	1	
Tumor neuroendocrino pancreático	1	1	
Paraganglioma	1	1	
Feocromocitoma	1	1	
Carcinoma de pulmón de células pequeñas	1	1	

Este anticuerpo tiñe tumores como está indicado en la literatura.

Resolución de Problemas

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en la misma tinción para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo da negativo, se deben analizar otros controles positivos usados en la misma ejecución para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Deberá seguirse el procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si se produce una tinción de fondo excesiva, pueden haber niveles altos de biotina endógena. Se deberá incluir una etapa de bloqueo con biotina a no ser que se esté utilizando un sistema de detección sin biotina, en cuyo caso ninguna biotina presente sería un factor que contribuyera a la tinción de fondo.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina deberá repetirse el procedimiento de desparafinación.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva. Otras posibilidades que podrían afectar adversamente a la adhesión del tejido incluyen un secado insuficiente del corte de tejido en el portaobjetos antes de la tinción o fijación en formol que no fuera neutralizado con tampón apropiadamente. El grosor del tejido también puede ser un factor causante.

Para conocer la acción correctiva, consulte la sección de las instrucciones de uso o contacte con el servicio técnico de Cell Marque a través de techsupport@cellmarque.com.

Bibliografía

1. Fischer-Colbrie R, et al. Immunological studies on the distribution of chromogranin A and B in endocrine and nervous tissues. Neuroscience. 1985; 16:547-55.
2. Hearn SA. Electron microscopic localization of chromogranin A in osmium-fixed neuroendocrine cells with a protein A-gold technique. J Histochem Cytochem. 1987; 35:795-801.

3. Wilson BS, et al. Detection of chromogranin in neuroendocrine cells with a monoclonal antibody. Am J Pathol. 1984; 115:458-68.

Limitaciones de Responsabilidad

*TWEEN es una marca registrada de Croda International PLC.

©2023 Sigma-Aldrich Co. LLC. Todos los derechos reservados. SIGMA-ALDRICH es una marca comercial de Sigma-Aldrich Co. LLC, registrada en EE. UU. y en otros países. Cell Marque, Trilogy, Declere y HiDef Detection son marcas comerciales de Sigma-Aldrich Co. LLC o de sus filiales.

www.cellmarque.com

Cell Marque Corporation
6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

EC REP EMERGO EUROPE B.V.
Westervoortsedijk 60, 6827 AT Arnhem, The Netherlands

CE

CM Template #2.4v2
Implemention date 29 Jun 2023