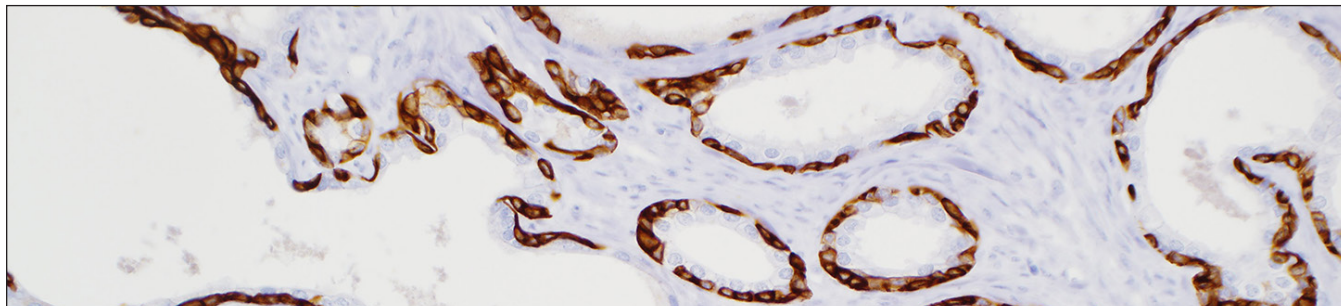


# Cytokeratin (34betaE12)

## Mouse Monoclonal Antibody



### DISPONIBILIDADE DO PRODUTO

N.º Cat.	Descrição
334M-84	0,1 ml, concentrado
334M-85	0,5 ml, concentrado
334M-86	1,0 ml, concentrado
334M-87	1,0 ml, pré-diluir, pronto a utilizar
334M-88	7,0 ml, pré-diluir, pronto a utilizar
334M-80	25,0 ml, pré-diluir, pronto a utilizar
334S	Lâminas de controlo positivo, 5 lâminas/embalagem

### DEFINIÇÕES DOS SÍMBOLOS

<b>P</b>	pré-diluir
<b>C</b>	concentrado
<b>A</b>	ascite
<b>S</b>	sobrenadante

<b>E</b>	soro
<b>DIL</b>	intervalo de diluição do concentrado
<b>KEY-CODE</b>	código

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Este anticorpo destina-se a ser utilizado no diagnóstico *in vitro* (IVD).

O anticorpo Cell Marque Cytokeratin (34betaE12) destina-se a ser utilizado em laboratórios qualificados para a identificação qualitativa, através de microscopia óptica, da presença de antígenos associados em secções de tecido impregnado em parafina e fixado em formol, utilizando métodos de teste IHC (imuno-histoquímica). Este anticorpo é indicado para ser utilizado, na sequência de diagnósticos diferenciais clínicos, como um auxiliar na identificação de carcinomas dentro do contexto de painéis de anticorpos, do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico avaliados por um patologista qualificado.

### RESUMO E EXPLICAÇÃO

Anti-Cytokeratin, 34betaE12 é um anticorpo para a citoqueratina de elevado peso molecular, que reage com todos os epitélios escamosos e ductais e carcinomas corados. Este anticorpo reconhece as citoqueratinas 1,5,10 e 14, que são encontradas em epitélios complexos. Anti-Cytokeratin, 34betaE12 não apresenta qualquer reactividade com hepatócitos, células acinosas pancreáticas, túbulos renais proximais ou glândulas do endométrio; não ocorreu qualquer reactividade com células derivadas de epitélios simples. Os tumores mesenquimatosos, linfomas, melanomas e tumores neurais não são reactivos com este anticorpo, com algumas excepções. Anti-Cytokeratin, 34betaE12 assinala as células mioepiteliais e demonstrou ser útil para distinguir o adenocarcinoma prostático de hiperplasia da próstata. Este anticorpo foi igualmente útil a separar proliferações intraductais da mama benignas de malignas.<sup>1-6</sup>

### PRINCÍPIOS E PROCEDIMENTOS

O anticorpo primário indicado (série 334M) pode ser utilizado como o anticorpo primário para a coloração imuno-histoquímica de secções de tecido impregnado em parafina e fixado em formol. Regra geral, a coloração imuno-histoquímica em conjunto com um sistema de detecção de estreptavidina-biotina permite a visualização de antígenos através da aplicação sequencial de um anticorpo específico (anticorpo primário) ao antígeno, um anticorpo secundário (anticorpo de ligação) ao anticorpo primário, um complexo enzimático e um substrato cromogénico com etapas de lavagem intercaladas. Em alternativa, pode ser utilizado um sistema de detecção de polímero sem biotina. A activação enzimática do cromogénico resulta num produto de reacção visível no local do antígeno. A amostra pode depois ser sujeita a um contrastante e coberta por uma lamela. Os resultados são interpretados utilizando um microscópio óptico e auxiliam no diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, que podem ou não estar associados a um determinado antígeno.

A diluição dos produtos pré-diluídos Cell Marque é ideal para utilização com os kits de detecção Cell Marque, apesar de serem frequentemente utilizados com êxito com uma grande variedade de kits de detecção colocados à disposição por outros fabricantes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Consultar o rótulo do produto para obter informações específicas do lote relativamente ao seguinte:**

1. Concentração de imunoglobulina do anticorpo
2. Pormenores sobre a origem

### Reagentes fornecidos

**Pré-diluído** O produto de anticorpo primário indicado (334M-87, 334M-88, 334M-80) contém reagente pronto a utilizar.

O intervalo de concentração da imunoglobulina pré-diluída para este produto é 1 - 10 µg/ml.

**Concentrado** O produto de anticorpo primário indicado (334M-84, 334M-85, 334M-86) contém reagente concentrado.

Tanto o formato pré-diluído como o concentrado deste anticorpo são diluídos em tampão Tris, pH 7,3–7,7, com BSA a 1% e <0,1% de azida de sódio.

O intervalo de concentração da imunoglobulina concentrada para este produto é 100 - 1000 µg/ml.

O intervalo de diluição de trabalho recomendado para o produto concentrado é **1:100 - 1:500** e está indicado no rótulo do produto.

**Isótipo:** IgG<sub>1</sub>/κ

### Reconstituição, homogeneização, diluição e titulação

O anticorpo pré-diluído está pronto a utilizar e é otimizado para coloração. Não é necessária qualquer reconstituição, homogeneização, diluição ou titulação. O anticorpo concentrado é otimizado para ser diluído dentro do intervalo de diluição.

O utilizador tem de validar a diluição de trabalho do produto concentrado. As diferenças ao nível do processamento de tecidos e dos procedimentos técnicos no laboratório podem dar origem a uma variabilidade significativa nos resultados e exigem, por consequência, a utilização regular de controlos. (Consultar a secção Procedimentos de controlo de qualidade)

### Materiais e reagentes necessários mas não fornecidos

Poderão ser necessários os seguintes reagentes e materiais para a coloração, mas não são fornecidos com o anticorpo primário:

- |  |   |
|--|---|
| 1. Tecido de controlo positivo e negativo  | <i>Nota: O pré-tratamento da Cell Marque, Trilogy™ (n.º de cat. 920P-06), pode substituir os números 6 e 7 em cima.</i> |
| 2. Lâminas de microscópio, com carga positiva                                      |   |
| 3. Estufa de secagem com capacidade para manter uma temperatura de 58–60 °C ± 5 °C | 8. Água desionizada ou destilada  |
| 4. Tinas ou banhos de coloração  | 9. Panela de pressão eléctrica (n.º de cat. 976L) para a etapa de pré-tratamento do tecido                              |
| 5. Cronómetro  | 10. Sistema de detecção (tal como n.º de cat. 954D-20) e cromogénio (tal como n.º de cat. 957D-20)                      |
| 6. Xilol ou substituto de xilol  |   |
| 7. Etanol ou álcool de grau reagente   | 11. Soluções de lavagem (n.º de cat. 935B-09)   |

- |   |   |
|---|---|
| 12. Hematoxilina (n.º de cat. 930B-05) ou outro contrastante        | 15. Bloco de avidina-biotina (n.º de cat. 928B-02 para utilização com a detecção de estreptavidina-biotina) |
| 13. Diluentes de anticorpo (tal como n.º de cat. 938B-05)           | 16. Reagente de controlo negativo (n.º de cat. 932B-02 para ratinho; n.º de cat. 933B-02 para coelho)       |
| 14. Bloco de peróxido (n.º de cat. 925B-05) para utilização com HRP | 17. Meio de montagem (n.º de cat. 931B-03)  |
|   | 18. Lamelas de cobertura  |
|   | 19. Microscópio óptico (40–400x)  |

### Conservação e manuseamento

Conservar a 2–8°C. Não congelar.

Para garantir uma correcta distribuição do reagente e a estabilidade do anticorpo após cada execução, deve-se voltar a colocar a tampa e o frasco deve ser imediatamente colocado no frigorífico em posição vertical.

Cada reagente de anticorpo tem indicada a respectiva data de validade. Quando correctamente conservado, o reagente permanece estável até à data indicada no rótulo. Não utilizar o reagente depois de ultrapassada a data de validade para o método de conservação indicado.

Não existem quaisquer sinais definitivos que indiquem a instabilidade deste produto, como tal, deverão ser processados simultaneamente controlos positivos e negativos com as amostras desconhecidas. Contactar o serviço de apoio ao cliente da Cell Marque caso haja suspeita de instabilidade do reagente.

### Colheita das amostras e preparação para análise

Os tecidos processados regularmente, fixados em formol neutro tamponado e impregnados em parafina, são adequados para utilização com este anticorpo primário, quando utilizados com os kits de detecção Cell Marque (consultar a secção Materiais e reagentes necessários mas não fornecidos). Nota: A Cell Marque avalia o desempenho apenas em tecidos humanos. O fixador de tecido recomendado é o formol neutro tamponado a 10%. Poderão ocorrer resultados variáveis em consequência de fixação prolongada ou processos especiais, tais como a descalcificação de preparações de medula óssea.

Cada secção deve ser cortada com a espessura apropriada (aproximadamente 3 µm) e colocada numa lâmina de vidro com carga positiva. As lâminas que contêm a secção de tecido podem ser aquecidas durante pelo menos 2 horas (mas não mais de 24 horas) numa estufa a 58–60 °C ± 5 °C.

## ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

1. Tomar as precauções razoáveis ao manusear os reagentes. Usar luvas descartáveis e batas laboratoriais ao manusear substâncias que se suspeite serem cancerígenas ou materiais tóxicos (por exemplo: xilol).

2. Evitar o contacto dos reagentes com os olhos e as membranas mucosas. Se os reagentes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lavar com água abundante.
3. As amostras de doentes e todos os materiais que entrem em contacto com as mesmas deverão ser manuseados como materiais que constituem perigo biológico e devem ser eliminados com as devidas precauções. Nunca pipetar com a boca.
4. Evitar a contaminação microbiana dos reagentes, pois tal poderia produzir resultados incorrectos.
5. O utilizador tem de validar os tempos e temperaturas de incubação.
6. Os reagentes pré-diluídos, prontos a utilizar têm uma diluição ideal e uma nova diluição pode originar a perda de coloração do antigénio.
7. Os reagentes concentrados podem ser diluídos numa diluição ideal com base na validação por parte do utilizador. Qualquer diluente utilizado que não seja especificamente recomendado neste documento tem de ser também validado pelo utilizador, em relação à sua compatibilidade e ao efeito na estabilidade.
8. Quando utilizado de acordo com as instruções, este produto não é classificado como substância perigosa. A concentração do conservante azida de sódio no reagente é inferior a 0,1% e não atinge os critérios OSHA para classificação como substância perigosa na concentração indicada. Consultar as fichas de segurança (MSDS).
9. O utilizador deverá validar quaisquer outras condições de conservação que não as especificadas no folheto informativo incluído na embalagem.
10. O diluente pode conter albumina sérica bovina e o sobrenadante pode conter soro bovino. Os produtos que contêm soro bovino fetal e os produtos que contêm albumina sérica bovina foram comprados em fornecedores comerciais. Os Certificados de Origem relativos à origem animal utilizada nestes produtos encontram-se nos arquivos da Cell Marque. Os certificados confirmam que os materiais de origem bovina são provenientes de países com risco negligenciável de BSE e indicam que são originários dos EUA e Canadá.
11. Tal como com qualquer produto derivado de origem biológica, devem ser utilizados procedimentos de manuseamento correctos.

## INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

### Procedimento detalhado

Protocolos de coloração recomendados para o anticorpo primário indicado (série 334M):

#### Sistema HiDef Detection™:

1. Desparafinar, rehidratar e proceder à recuperação do epítipo; o método de preferência é a utilização de técnicas de recuperação do epítipo induzida por calor (HIER) utilizando o Trilogy™ da Cell Marque em conjunto com uma panela de pressão. O método preferencial permite uma desparafinação, rehidratação e recuperação do epítipo em simultâneo. Aquando da conclusão, enxaguar com 5 mudas de água destilada ou desionizada.

2. Se for utilizado o sistema de detecção HRP, colocar as lâminas num bloco de peróxido durante 10 minutos; enxaguar. Se for utilizado um sistema de detecção AP, omitir este passo.
3. Aplicar o anticorpo e incubar durante 10-30 minutos; enxaguar.
4. Aplicar amplificador HiDef Detection™ para coelho/ratinho durante 10 minutos; enxaguar.
5. Aplicar o detector de polímero durante 10 minutos; enxaguar.
6. Aplicar uma quantidade ampla de cromogénio e incubar durante 1-10 minutos; enxaguar.
7. Desidratar e aplicar uma lamela.

## PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

### Controlo tecidual positivo

Com cada procedimento de coloração efectuado deverá ser processado um controlo tecidual positivo. Este tecido poderá conter componentes tecidulares ou células de coloração negativa e positiva e servir como tecido de controlo positivo e negativo. Os tecidos de controlo deverão ser amostras recém-colhidas de autópsia, biópsia ou cirurgia, preparados ou fixados o mais cedo possível de forma idêntica às secções de teste. A utilização de uma secção de tecido fixado ou processado de forma diferente da amostra de teste servirá como controlo para todos os reagentes e etapas do método, excepto para a fixação e o processamento de tecidos.

Um tecido com coloração positiva fraca é o mais adequado para um controlo de qualidade ideal e para a detecção de níveis reduzidos de degradação dos reagentes. O controlo tecidual positivo para a série de anticorpo primário indicado (série 334M) pode incluir o seguinte:

Próstata	Citoplásmica
----------	--------------

Os controlos tecidulares positivos conhecidos deverão ser utilizados apenas para monitorizar o correcto desempenho dos tecidos processados e dos reagentes de teste, e não para auxiliar na determinação de um diagnóstico específico de amostras de doentes. Se os controlos tecidulares positivos não demonstrarem uma coloração positiva adequada, os resultados das amostras de teste têm de ser considerados inválidos.

### Controlo tecidual negativo

Poderá ser utilizado como controlo tecidual negativo o mesmo tecido utilizado para o controlo tecidual positivo. Os vários tipos de células presentes na maioria das secções de tecidos apresentam locais de controlo negativo interno, mas tal deverá ser confirmado pelo utilizador. Os componentes que não coram deverão demonstrar a ausência de coloração específica e fornecer uma indicação de coloração de fundo não específica. Se ocorrer uma coloração específica nos locais de controlo tecidual negativo, os resultados das amostras dos doentes têm de ser considerados inválidos.

### Discrepâncias inexplicáveis

Quaisquer discrepâncias inexplicáveis nos controlos deverão ser imediatamente comunicadas ao Serviço de apoio ao cliente da Cell Marque. Se os resultados do controlo de qualidade não estiverem em conformidade com as especificações, os resultados dos doentes são inválidos. Consultar a secção Resolução de problemas deste folheto. Identificar e corrigir o problema e, em seguida, repetir todo o procedimento com as amostras dos doentes.

### Reagente de controlo negativo

Deverá ser processado um reagente de controlo negativo para cada amostra, para auxiliar na interpretação dos resultados. É utilizado um reagente de controlo negativo em vez do anticorpo primário para avaliar a coloração não específica. A lâmina deve ser tratada com reagente de controlo negativo, que corresponda à espécie hospedeira do anticorpo primário e que tenha, idealmente, a mesma concentração de IgG. O período de incubação do reagente de controlo negativo deverá ser igual ao período de incubação do anticorpo primário.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O procedimento de imunocoloração provoca a precipitação de um produto de reacção com coloração nos locais do antígeno identificados pelo anticorpo primário. Consultar no folheto informativo do sistema de detecção adequado as reacções de cor esperadas. Um patologista qualificado com experiência em procedimentos imuno-histoquímicos tem de avaliar os controlos tecidulares positivos e negativos antes de interpretar os resultados.

### Controlo tecidular positivo

O controlo tecidular positivo corado deverá ser examinado primeiro para conferir que todos os reagentes estão a funcionar correctamente. A presença de um produto de reacção com coloração correcta dentro das células alvo indica uma reactividade positiva. Consultar no folheto informativo do sistema de detecção utilizado as reacções de cor esperadas. Dependendo da duração da incubação e da potência da hematoxilina utilizada, a contrastação resultará numa coloração azul clara a escura dos núcleos das células. A utilização excessiva ou insuficiente de contrastante pode comprometer a interpretação correcta dos resultados. Se o controlo tecidular positivo não demonstrar uma coloração positiva adequada, quaisquer resultados das amostras de teste são considerados inválidos.

### Controlo tecidular negativo

O controlo tecidular negativo deverá ser examinado depois do controlo tecidular positivo para verificar a marcação específica do antígeno alvo pelo anticorpo primário. A ausência de coloração específica no controlo tecidular negativo confirma a inexistência de reactividade cruzada do anticorpo relativamente às células ou componentes celulares. Se ocorrer uma coloração específica no controlo tecidular negativo, os resultados da amostra do doente são considerados inválidos. A coloração não específica, se existente, terá um aspecto difuso. Poderá ser igualmente observada uma ligeira coloração esporádica do tecido conjuntivo, nas secções de tecidos que não tenham sido devidamente fixados. Deverão ser utilizadas células intactas para a interpretação dos resultados da

coloração. As células necróticas ou degeneradas apresentam uma coloração não específica.

### Tecido do doente

As amostras do doente deverão ser examinadas em último lugar. A intensidade da coloração positiva deverá ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como acontece com qualquer teste de imuno-histoquímica, um resultado negativo significa que o antígeno em questão não foi detectado, e não que o antígeno não existe nas células ou nos tecidos analisados. Um painel de anticorpos pode ajudar na identificação de reacções falsamente negativas (consultar a secção Resumo dos resultados esperados). Ao interpretar qualquer resultado de imuno-histoquímica, a morfologia de cada amostra de tecido deverá ser igualmente examinada utilizando uma secção corada com hematoxilina e eosina. Os resultados morfológicos e os dados clínicos pertinentes do doente devem ser interpretados por um patologista qualificado.

## LIMITAÇÕES

1. Este reagente destina-se "a utilização exclusiva por profissionais" uma vez que a imuno-histoquímica é um processo de várias etapas que exige uma formação especializada na selecção dos reagentes apropriados, tecidos, fixação, processamento, preparação da lâmina de imuno-histoquímica e interpretação dos resultados da coloração.
2. Exclusivamente para utilização em laboratórios.
3. Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
4. A coloração do tecido depende do manuseamento e do processamento do tecido antes da coloração. Uma incorrecta fixação, congelação, descongelação, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação com outros tecidos ou fluidos pode produzir artefactos, aprisionamento de anticorpos ou resultados falsos negativos. Os resultados inconsistentes podem ser resultantes de variações nos métodos de fixação e impregnação, bem como de irregularidades inerentes ao tecido.
5. A utilização excessiva ou insuficiente de contrastante pode comprometer a interpretação correcta dos resultados.
6. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva, ou da sua ausência, tem de ser avaliada dentro do contexto do historial clínico, morfologia, outros critérios histopatológicos e ainda outros testes de diagnóstico. Este anticorpo destina-se a ser utilizado num painel de anticorpos, se aplicável. É da responsabilidade de um patologista qualificado estar familiarizado com os anticorpos, os reagentes, os painéis de diagnóstico e os métodos utilizados na produção da preparação corada. A coloração deve ser efectuada por um laboratório licenciado certificado sob a supervisão de um patologista responsável pelo exame das lâminas coradas e garantia da adequação dos controlos positivos e negativos.
7. A Cell Marque fornece anticorpos e reagentes numa diluição ideal para utilização conforme indicado. Qualquer desvio dos procedimentos de teste recomendados pode invalidar os resultados previstos. Têm de ser utilizados e documentados os controlos apropriados. Os utilizadores terão, em qualquer circunstância, de

aceitar a responsabilidade da interpretação dos resultados dos doentes.

8. A Cell Marque fornece anticorpos primários no formato concentrado de modo a que o utilizador possa subsequentemente proceder a uma diluição ideal para utilização, sujeita à determinação do utilizador e ao cumprimento de técnicas de validação adequadas. Os utilizadores têm de validar a utilização de outros diluentes não recomendados neste documento. Depois de o componente primário ser validado como sendo adequado para utilização, qualquer desvio dos procedimentos de teste recomendados pode invalidar resultados esperados. Têm de ser utilizados e documentados os controlos apropriados. Os utilizadores terão, em qualquer circunstância, de aceitar a responsabilidade da interpretação dos resultados dos doentes.
9. Este produto não se destina a ser utilizado em citometria de fluxo.
10. Os reagentes podem demonstrar reacções inesperadas em tecidos não testados anteriormente. A possibilidade de surgirem reacções inesperadas, mesmo nos grupos de tecidos testados, não pode ser totalmente eliminada devido à variabilidade biológica da expressão do antígeno em neoplasias ou outros tecidos patológicos. Contactar o serviço de apoio ao cliente da Cell Marque para comunicar quaisquer reacções suspeitas inesperadas documentadas.
11. Os tecidos de indivíduos infectados com o vírus da hepatite B e contendo o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) podem apresentar coloração não específica com peroxidase de rábano.
12. Quando utilizado em etapas de bloqueio, o soro normal da mesma origem animal que o anti-soro secundário poderá provocar resultados falsos negativos ou falsos positivos devido ao efeito de auto-anticorpos ou anticorpos naturais.
13. Poderão observar-se resultados falsos positivos devido a ligação não imunológica de proteínas ou produtos de reacção dos substratos. Tais resultados poderão ser igualmente provocados por actividade de pseudo-peroxidase (eritrócitos), actividade de peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (exemplo: fígado, cérebro, mama, rins) dependendo do tipo de técnica de imunocoloração utilizada.
14. Tal como acontece com qualquer teste de imuno-histoquímica, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno não existia nas células ou tecidos analisados.

#### Limitações específicas

1. Os produtos de anticorpo pré-diluído são optimizados como um produto pronto a utilizar. Devido à possibilidade de variação na fixação e processamento dos tecidos, poderá ser necessário aumentar ou diminuir o tempo de incubação do anticorpo primário em amostras individuais.
2. O anticorpo, quando utilizado em conjunto com os sistemas de detecção e acessórios, detecta antígeno(s) que resiste(m) à fixação com formol e ao processamento e seccionamento de tecidos de rotina. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados continuam a ser, como seriam em qualquer circunstância, os responsáveis pela interpretação e validação dos resultados dos doentes.

#### Resumo dos resultados esperados

Consultar as seguintes tabelas de reactividade:

Estudo normal			
Tecido	N.º corados	N.º total	Observações
Cérebro	0	1	
Córtex da supra-renal	0	1	
Ovário	0	1	
Pâncreas	1	1	
Paratiróide	1	1	
Hipófise	0	1	
Testículos	0	1	
Tiróide	1	1	
Mama	1	1	
Baço	0	1	
Amígdala	0	1	Escamosas +
Timo	1	1	Epitélio +
Medula óssea	0	1	
Pulmão	1	1	
Coração	0	1	
Esófago	1	1	
Estômago	1	1	
Intestino delgado	1	1	
Cólon	1	1	
Fígado	1	1	
Glândula salivar	1	1	
Vesícula biliar	1	1	
Rim	1	1	Túbulos +
Bexiga	1	1	
Próstata	1	1	
Útero	1	1	
Trompa de Falópio	1	1	
Uréter	1	1	
Colo do útero	1	1	
Músculo esquelético	0	1	
Músculo liso	0	1	
Pele	1	1	
Nervo periférico	0	1	
Mesotélio	1	1	
Gordura	0	1	
Placenta	1	1	

Este anticorpo efectua a coloração de células epiteliais em diferentes órgãos.



Estudo de tecidos com doença			
Tecido	N.º corados	N.º total	Observações
Carcinoma da próstata	7	7	
Adenocarcinoma pulmonar	2	2	
Carcinoma das células escamosas do pulmão	2	2	
Mesotelioma	2	2	
Carcinoma colorectal	1	1	
Carcinoma de células renais	1	2	

Este anticorpo apresenta uma coloração positiva carcinoma papilar da tiróide.

### RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

- Se o controlo positivo apresentar uma coloração mais fraca que a esperada, deverão verificar-se os restantes controlos positivos processados durante o mesmo ensaio de coloração no instrumento em questão para determinar se tal situação foi causada pelo anticorpo primário ou por um dos reagentes secundários comuns.
- Se o controlo positivo for negativo, os outros controlos positivos utilizados no mesmo ensaio devem ser verificados para determinar se tal situação foi causada pelo anticorpo primário ou por um dos reagentes secundários comuns. Os tecidos poderão ter sido colhidos, fixados ou desparafinados incorrectamente. Deverá seguir-se o procedimento correcto para a colheita, conservação e fixação.
- Se ocorrer uma coloração de fundo excessiva, tal pode ser consequência da existência de níveis elevados de biotina endógena. Deve ser incluída uma etapa de bloqueio de biotina, excepto se estiver a ser utilizado um sistema de detecção sem biotina, caso em que qualquer biotina presente não seria um factor contribuinte para coloração de fundo.
- Se a parafina não tiver sido retirada na totalidade, o procedimento de desparafinação deve ser repetido.
- Se as secções de tecido desaparecerem (forem "varridas") da lâmina, as lâminas deverão ser verificadas para garantir que se encontram carregadas positivamente. Outras possibilidades que poderiam ter efeitos adversos na aderência dos tecidos incluem a secagem insuficiente da secção de tecido na lâmina antes da coloração ou fixação em formol que não tenha sido devidamente neutralizado com tampão. A espessura do tecido também pode ser um factor contribuinte.

Para acções correctivas, consultar a secção Procedimento detalhado ou contactar o serviço de apoio ao cliente da Cell Marque.

### REFERÊNCIAS

- Gown, AM et al. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. Am J Pathol 1984; 114:309.
- O'Malley, FP et al. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virch Arch A 1990; 417:191.
- Amin, MB. Analysis of cribriform morphology in prostatic neoplasia using antibody to high-molecular-weight cytokeratins. Arch Pathol Lab Med March 1994; 118:260-264.
- Wojno, KJ et al. The utility of basal cell-specific anti-cytokeratin antibody (34betaE12) in the diagnosis of prostate cancer. A review of 228 cases. Am J Surg Pathol 1995; 19:251-60.
- Moinfar, F et al. Use of keratin 35betaE12 as an adjunct in the diagnosis of mammary intraepithelial neoplasia-ductal type--benign and malignant intraductal proliferations. Am J Surg Pathol 1999; 23:1048-58.
- Yang, XJ et al. Rare expression of high-molecular-weight cytokeratin in adenocarcinoma of the prostate gland: a study of 100 cases of metastatic and locally advanced prostate cancer. Am J Surg Pathol 1999; 23:147-52.

### EXONERAÇÃO DE RESPONSABILIDADES


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


EMERGO EUROPE  
Molenstraat 15, 2513 BH, The Hague, NL.



CM Template #1.3 v.1