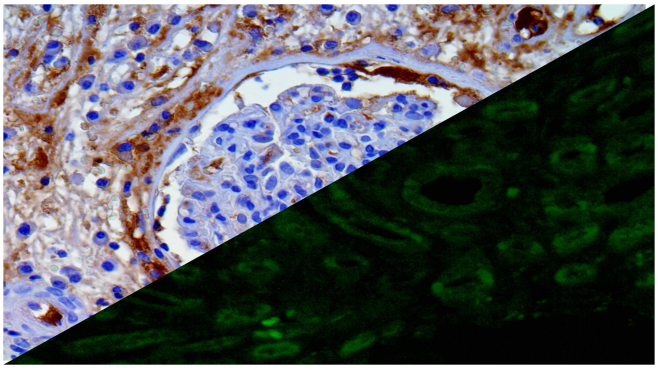
Amiloide A

Clona: EP335
Monoclonal de Conejo

CE IVD



Recuadro: IHQ y IF de Amiloide A en tejido de riñón fijado en formalina y embebido en parafina

Tipo de anticuerpo	Monoclonal de Conejo	**Clona**	EP335
Isotipo	IgG	**Reactividad**	Parafina ,congelada
Localización	Extracelular, Citoplasmático	**Reactividad de especie**	Humano
Control	Riñón, Amiloidosis		
Aplicación	Cáncer de Riñón y Urotelio, Rechazo y Autoinmunidad		

Presentación
Anti-Amiloide A es un anticuerpo monoclonal de conejo derivado de cultivo celular que se concentra, dializa, filtra y se diluye en(solución amortiguadora) pH 7.5, la cual contiene albumina sérica bovina (BSA) y azida sódica como antimicrobiano.

No. Catálogo	*Presentación*	*Dilución*	*Volumen*
BSB 2803	Prediluído	Listo para usar	3.0 mL
BSB 2804	Prediluído	Listo para usar	7.0 mL
BSB 2805	Prediluído	Listo para usar	15.0 mL
BSB 2806	Concentrado	1:25 - 1:100	0.1 mL
BSB 2807	Concentrado	1:25 - 1:100	0.5 mL
BSB 2808	Concentrado	1:25 - 1:100	1.0 mL

Control positivo de tejidos

No. Catálogo	*Cantidad*
BSB-9014-CS	5 portaobjetos

Almacenar a 2-8°C (Control de Tejidos: Almacenar 20-25°C)

Precauciones
1. Sólo para usuarios profesionales. Los resultados deben ser interpretados por un profesional médico calificado.
2. Este producto contiene 0.1% azida de sodio (NaN3) como antimicrobiano. Asegúrese de que se utilizan los procedimientos de manipulación adecuados con este reactivo.
3. Use siempre equipo de protección personal, como bata de laboratorio, gafas y guantes cuando manipule reactivos.
4. Deseche la solución no utilizada con abundante cantidad de agua.
5. No ingerir este reactivo. Si se ingiere el reactivo, consulte a un médico de inmediato.
6. Evite el contacto con los ojos. Si se produce contacto, enjuague con una gran cantidad de agua.
7. Siga las precauciones de seguridad del dispositivo de calentamiento utilizado para la recuperación de epítopos (Olla de presión o similar).
8. Para obtener información adicional sobre seguridad, consulte el manual, hoja de especificaciones o de datos de seguridad de este producto.
9. Para obtener recomendaciones completas para el manejo de especímenes biológicos, consulte el documento del CDC, "Directrices para prácticas de trabajo seguras en laboratorios de diagnóstico médicos humanos y animales" (enlistado en las referencias abajo).

Estabilidad
Este Producto es estable hasta la fecha de caducidad en la etiqueta del producto. No usar después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta del paquete. Evitar grandes fluctuaciones de temperatura. Conservar adecuadamente cuando no esté en uso y evitar una exposición prolongada a temperatura ambiente.

Preparación del espécimen
Secciones de parafina: El anticuerpo se puede utilizar en secciones de tejido fijados con formalina amortiguada y embebidos en parafina. Asegúrese de que el tejido se someta a una fijación adecuada para obtener mejores resultados. Se recomienda el pretratamiento de tejidos con recuperación térmica de epítopos utilizando la solución ImmunoDNA Retriever con Citrato de Bio SB (BSB 0020-BSB 0023), ImmunoDNA Retriever con EDTA (BSB 0030-BSB 0033) o ImmunoDNA Digestor (BSB 0108-0112), o similares. Consulte el reverso para ver el protocolo completo. Durante la inmunotinción, el tejido debe permanecer hidratado en todo momento, mediante el uso de una solución de lavado como el ImmunoDNA Washer (BSB 0029 y BSB 0042), o similar.

Secciones congeladas y preparaciones celulares: El anticuerpo se puede utilizar para la inmunohistoquímica en secciones congeladas y preparaciones celulares fijadas en acetona.

Uso
Para uso en diagnóstico in Vitro.

Este anticuerpo ha sido validado para ser utilizado en aplicaciones inmunohistoquímicas en tejidos fijados en formalina amortiguada y embebidos en parafina, tejido congelado y preparaciones celulares. La interpretación de los resultados debe ser realizada por un profesional médico calificado.

* El anticuerpo Amiloide A, clona EP335, se ha fabricado utilizando la tecnología Epitomics RabMab® cubierta por las patentes nº 5.675.063 y 7.402.409.

Inmunógeno
Péptido Sintético Correspondiente A Residuos de la Proteína Amiloide A Sérica Humana.

Resumen y explicación
Las proteínas séricas amiloide A (SAA) son una familia de apolipoproteínas asociadas con lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma. Diferentes isoformas de SAA se expresan de forma constitutiva (SAA constitutivos) a diferentes niveles o en respuesta a estímulos inflamatorios (SAA de fase aguda). Estas proteínas son producidas predominantemente por el hígado. La conservación de estas proteínas en todos los invertebrados y vertebrados sugiere que los SAA desempeñan un papel fundamental en todos los animales. Las proteínas amiloides A séricas de fase aguda (A-SAA) se secretan durante la fase aguda de la inflamación. Estas proteínas tienen varias funciones, incluido el transporte de colesterol al hígado para su secreción a la bilis, el reclutamiento de células inmunitarias a sitios inflamatorios y la inducción de enzimas que degradan la matriz extracelular. Los A-SAA están implicados en varias enfermedades inflamatorias crónicas, como amiloidosis, aterosclerosis y artritis reumatoide.

La amiloidosis es una enfermedad caracterizada por la acumulación anormal de amiloides, proteínas en láminas β-plegadas fibrilares no ramificadas anormales que son insolubles y muy resistentes a la degradación proteolítica que dan como resultado una disfunción orgánica localizada o sistémica. La amiloidosis se agrupa en formas AL (primaria), AA (secundaria) y hereditaria. La clasificación adecuada es importante ya que el tratamiento y el pronóstico de los trastornos son muy diferentes. La amiloidosis AA se asocia con una variedad de afecciones e infecciones inflamatorias crónicas derivadas de SAA. La tinción inmunohistoquímica con un panel de anticuerpos que incluye cadenas ligeras de Ig κ y λ, amiloide A y transtiretina puede ayudar a reconocer la mayoría de las formas de amiloide. La inmunotinción del amiloide A detecta la deposición tisular de la proteína amiloide A sérica, una proteína reactiva de fase aguda. Es positivo en amiloidosis AA y fiebre mediterránea familiar. Recientemente, SAA también se ha investigado como un marcador potencial de actividad neoplásica. Se ha informado que las concentraciones de SAA son un marcador de mal pronóstico, elevadas en pacientes con estadios avanzados de cáncer y aquellos con enfermedad maligna.

IHQ y IF Protocolo

Preparación para el procedimiento de tejidos congelados

1. Incluya la muestra en OCT dentro del criostato.
2. Cortar secciones a 5 micrones.
3. Coloque la sección en un portaobjetos de vidrio cargado positivamente.
4. Secar al aire durante 30-60 minutos.
5. Fijar en acetona al 100% durante 10 minutos.
6. Secar al aire durante otros 10 minutos.

Preparación para el procedimiento de tejidos FFPE

1. Corte y monte los tejidos incluidos en parafina fijados con formalina de 3-5 micras en portaobjetos cargados positivamente, como los portaobjetos Bio SB Hydrophilic Plus (BSB 7028) o TintoDetector Cap Gap Plus (BSB 7006) o similares.
2. Secar al aire durante 2 horas a 58 ° C.
3. Desparafinar, deshidratar y rehidratar los tejidos.
4. Someter los tejidos a la recuperación de epítopos inducida por calor (HIER) usando una solución de recuperación adecuada, como ImmunoDNA Retriever con Citrato (BSB 0020-BSB 0023) o EDTA (BSB 0030-BSB 0033).
5. Se puede utilizar cualquiera de los tres métodos de calentamiento:

a. Olla a presión TintoRetriever o equivalente

Coloque los tejidos / portaobjetos en un recipiente plástico y portalaminillas o frasco de coplin resistente al calor que contenga el recuperador InmunoDNA con Citrato o EDTA y colóquelo sobre un soporte o rejilla en la olla a presión. Agregue 1-2 pulgadas de agua destilada a la olla a presión y seleccione la temperatura deseada . Incubar durante 15 minutos. Abra y transfiera inmediatamente los portaobjetos a temperatura ambiente.

b. Módulo TintoRetriever PT o método de baño de agua (baño maría)

Coloque los tejidos / portaobjetos en una caja de tinción o en un frasco de coplin que contenga ImmunoDNA Retriever con citrato o EDTA a 95 ° -99 ° C pre calentado, Incube durante 30-60 minutos.

C. Método de vaporizador convencional

Coloque los tejidos / portaobjetos en un recipiente plástico y portalaminillas o frasco de coplin resistente al calor que contenga ImmunoDNA Retriever con Citrato o EDTA en una vaporera pre calentada, cubra e incube durante 30-60 minutos.

6. Después del tratamiento térmico, transfiera los portaobjetos de ImmunoDNA Retriever con Citrato o EDTA a temperatura ambiente y déjelos reposar durante 15-20 minutos.
7. Para IF manual, realice la incubación del anticuerpo a temperatura ambiente. Para los métodos de IF automatizados, realice la incubación de anticuerpos de acuerdo con las instrucciones del fabricante del instrumento.
8. Lave los portaobjetos con ImmunoDNA Washer o agua desionizada.
9. Continúe con el protocolo IF. Lave los portaobjetos entre cada paso con la solución de lavado ImmunoDNA Washer

Protocolo Inmunohistoquímico Abreviado

Paso	ImmunoDetector AP/HRP	PolyDetector AP/HRP	PolyDetector Plus HRP
Bloqueador de peroxidasa/AP	5 min.	5 min.	5 min
Anticuerpo primario	30-60 min.	30-60 min.	30-60 min.
Detección de 1° paso	10 min.	30-45 min.	15 min.
Detección de 2° paso	10 min.	No Aplica	15 min.
Sustrato-Cromógeno	5-10 min.	5-10 min.	5-10 min.
Contratinción/Montaje	Varía	Varía	Varía

Protocolo AmpliDetector Plus FITC IF abreviado

Paso	Tiempo de Incubación
Enjuague los portaobjetos con la solución r de lavado para IF	
Elimine y limpie el exceso de la solución de lavado para IF del portaobjetos	
Bloqueador de peroxidasa	5 min.
Anticuerpo primario	5 min.
Detección de 1° paso	5 min.
Detección de 2° paso	5 min.
Mantenga los reactivos FITC y los portaobjetos en la oscuridad	
Aplicar la solución AmpliDetector FITC	5 min.
Contratinción con medio de montaje IF	

Protocolo de montaje para IF

1. Atempere el FluoroMounter o FluoroMounter con DAPI a temperatura ambiente.
2. Enjuague los portaobjetos con agua destilada o desionizada.
3. Retire el exceso de agua de los portaobjetos antes de colocarlos planos en protegidos de la luz directa .
4. Ponga el frasco boca abajo antes de abrir el frasco gotero.
5. Aplique 1-3 gotas de FluoroMounter a cada portaobjeto asegurándose de cubrir la muestra.
6. Incube de 3 a 5 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz directa .
7. Aplique un cubreobjetos.
8. Observe bajo un microscopio fluorescente usando los filtros apropiados.
9. Se recomienda almacenar los portaobjetos a 2-8 ºC en la oscuridad.

Limitaciones del producto

Debido a la variabilidad inherente presente en los procedimientos inmunohistoquímicos (incluido el tiempo de fijación de los tejidos, el factor de dilución del anticuerpo, el método de recuperación utilizado y el tiempo de incubación), se debe establecer un rendimiento óptimo mediante el uso de controles positivos y negativos. Los resultados deben ser interpretados por un profesional médico calificado.

Referencias

1. Uhlar CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant". Eur. J. Biochem. 1999; 265 (2): 501–23.
2. Manley PN, Ancsin JB, Kisilevsky R. Rapid recycling of cholesterol: the joint biologic role of C-reactive protein and serum amyloid A. Med. Hypotheses 2006; 66 (4): 784–92.
3. Zhang N, Ahsan MH, Purchio AF, West DB. Serum amyloid A-luciferase transgenic mice: response to sepsis, acute arthritis, and contact hypersensitivity and the effects of proteasome inhibition". J. Immunol. 2005; 174 (12): 8125–34.
4. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012. https://www.cdc.gov/mmwr/pdf/other/su6101.pdf

Leyenda de Símbolo/Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

EC REP QAdvis EAR AB Ideon Science Park Scheelevägen 17 SE-223 70 Lund, Sweden	Temperatura de almacenamiento Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	Fabricante Fabricant Hersteller	REF Número de Catálogo Référence du catalogue Bestellnummer
IVD In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	Consulte las instrucciones Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	Fecha de Expiración Utiliser jusque Verwendbar bis	LOT Número de Lote Code du lot Chargenbezeichnung

Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD
5385 Hollister Avenue, Bldg. 8, Ste. 108 Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com