

CD163 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (EP324)

Rabbit anti-human CD163 Monoclonal Antibody (Clone EP324)

Código	EP-12-50503	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP324 ³
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	-
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecidos da amígdala ou placenta.
• Marcação	:	Citoplasma e Membrana celular

Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina. Não testado em tecidos congelados e técnicas de western-blotting.

Especificações:

O receptor sequestrante rico em cisteína tipo 1, proteína M130 ou CD163, cujo gene está localizado no cromossomo 12p13.3, é uma glicoproteína de membrana do tipo I de amplitude única que regula a fase aguda da inflamação. Sua função é mediar a endocitose dos complexos de hemoglobina e haptoglobina pelos macrófagos para proteger os tecidos do dano oxidativo mediado pela hemoglobina livre. Por essa razão, o CD163 pode desempenhar um papel importante na reciclagem de íons de ferro no corpo. Na sua forma solúvel, o CD163, cuja expressão é induzida pelos glicocorticóides, IL6 e IL10, também desempenha importante papel anti-inflamatório e, portanto, sua determinação no soro pode ser utilizada como marcador de ativação macrófágica em doenças autoimunes como artrite reumatóide e arteriosclerose. Em tecidos normais, CD163 está presente na superfície e citoplasma de monócitos (baixa expressão), macrófagos maduros (alta expressão) e elementos celulares derivados de monócitos, tais como células de Kupffer revestindo os sinusóides hepáticos, macrófagos da polpa vermelha esplênica, macrófagos corticais do timo e histiócitos da medula óssea e da meninge residentes. No entanto, em alguns estudos, não foi observada coloração de CD163 de macrófagos da polpa vermelha esplênica e macrófagos do centro germinativo folicular contendo corpos tingíveis. Em condições patológicas, a coloração citoplasmática e com membrana CD163 é altamente restrita a neoplasias com diferenciação monocítica e histiocítica, sem marcação em tecidos normais, linfomas e carcinomas, nem na maioria das neoplasias mesenquimais, incluindo tumores de células dendríticas foliculares. No entanto, a positividade constante foi relatada em histiócitos positivos para S100 da doença de Rosai-Dorfman, sarcoma histiocítico e células do angioma de células litorâneas do baço. Consistente com sua origem, muitos histiocitomas fibroso atípico, histiocitomas fibrosos benignos, fibroxantoma atípico e tumores de células gigantes tenossinoviais também apresentam coloração de CD163. Em casos isolados de leucemia mielóide aguda com diferenciação monocítica (AML, FAB, subtipo M5), também foi observada positividade para este marcador, o que foi confirmado por citometria de fluxo. Nos casos de linfoma cutâneo de células T, o aumento de macrófagos CD163 positivos tem sido associado à progressão da doença. Da mesma forma, nos carcinomas mamários, muitas células CD163 positivas foram observadas no estroma tumoral de tumores de alto grau, principalmente triplos negativos; ao contrário, a presença de abundantes macrófagos CD163-positivos nos seios linfáticos sugere um fator prognóstico favorável em pacientes com carcinoma de mama. Finalmente, a coloração de CD163 provou ser útil na distinção entre macrófagos e fibroblastos da íntima sinovial na artrite reumatóide, porque este anticorpo é mais específico do que o anti-CD68, o qual não discrimina entre estes tipos de células.

Armazenagem e estabilidade:

Armazenar entre 2°C e 8°C, porém o uso é feito em temperatura ambiente.

Conteúdo:

1. Ver frasco.

Notas técnicas importantes:

1. Evitar contato dos reagentes com os olhos e membranas mucosas. Caso os reagentes entrem em contato com áreas sensíveis lavar abundantemente com água.
2. Esse produto é prejudicial se ingerido.
3. Consulte as autoridades locais ou estaduais com relação ao método recomendado de descarte
4. Evitar a contaminação microbiana dos reagentes
5. Recomendado para uso em pesquisa (RUO)

Notas do protocolo:

A diluição ideal do anticorpo e protocolos para uma aplicação específica podem variar. Devido à sensibilidade superior destes reagentes exclusivos, os tempos de incubação recomendados não são aplicáveis a outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. Os protocolos ideais para uma aplicação específica podem variar. Esses incluem, mas não estão limitados à fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, diluição de anticorpos, espessura da secção de tecido. As recomendações e protocolos da literatura são baseados em uso exclusivo de produtos EasyPath. Em última análise, é responsabilidade do pesquisador para determinar as condições ideais. Este produto é apenas para uso profissional. A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico de múltiplas etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes apropriados, seleção de tecidos, fixação e em processamento, preparação da lâmina IHQ e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

Protocolo:

- 1 - Desparafinização - Estufa 60-65 °C por 3 horas, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na câmara pressurizada (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a câmara e deixar 15 minutos em 110° C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Anticorpo primário (Biocare ou EasyPath) por 30-60 minutos (Conforme padronização do laboratório), lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Amplificador do anticorpo EasyPath por 15 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Polímero PolyFusion-HRP EasyPath por 30 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio. Nota: O polímero é sensível à luz. Evitar a exposição desnecessária.
- 7 - Preparar o DAB EasyPath com 15 minutos de antecedência (Proporção: 1ml de DAB Substrato para 1 gota de DAB Cromógeno).
- 8 - DAB EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 9 - Potencializador do DAB EasyPath (etapa não obrigatória) por 2 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 10 - Hematoxilina EasyPath por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 11 - Bateria de álcool e xilol.
- 12 - Montar a(s) lâmina(s).

INSTRUÇÕES GERAIS

Para a obtenção de um melhor resultado da metodologia e uma completa compreensão da terminologia utilizada, nós recomendamos as seguintes indicações:

Número de testes realizados *

O número mínimo de testes é calculado com 100µl gotas de reagente, aconselhamos seguir esta quantidade de reagentes. Em casos de seções pequenas, no entanto, pode-se utilizar menos.

Tempo de execução

O tempo de execução foi calculado somando-se a duração de todas as etapas do método. Ele não inclui o tempo de desparafinizar, hidratar e desidratar o corte.

Coloração final

A metodologia foi padronizada a uma temperatura média de 20°C e em condições normais de trabalho, utilizando-se os produtos indicados nesta literatura. Pode ocorrer uma pequena variação na coloração final, devido principalmente a variação da temperatura, ocorrendo esta variação, deve-se alterar o tempo utilizado em cada reagente, com o objetivo de intensificar ou diminuir a coloração.

Validade

Indica o tempo em que produto permanece inalterado a partir de sua fabricação, se armazenado adequadamente. Cada produto possui uma etiqueta com identificação do lote e data de vencimento.

Equipamento básico

Bandeja de coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.

Câmara pressurizada Muscae Plus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Duas séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCEDENTE: para desparafinizar e levar os cortes das seções para água destilada, composta de: xilol (x2), etanol absoluto (x2), etanol a 96%, etanol a 70% e água destilada.

- ASCENDENTE: para desidratar e limpar, composta de: etanol a 70%, etanol a 96%, etanol absoluto (x2) e xilol (x2).

Aconselhamos o uso do meio de montagem ERV-MOUNT, comercializado pela Grupo Erviegas código EP-51-05042 frasco com 500ml e EP-51-05041 frasco com 100ml.

Equipamento complementar

Podem-se ser utilizadas micropipetas para reduzir a quantidade de reagentes utilizados durante o processo, bem como outros sistemas de recuperação antigênica como micro-ondas, panela de pressão, banho maria ou sistema automatizados para imuno-histoquímica como intelliPATH (Biocare).

Fixação e meios de inclusão

Os tempos dos métodos foram determinados a partir de cortes histológicos de fragmentos fixados em formol tamponado com pH 7 com tampão fosfato e inclusos em parafina, pelo tempo mínimo de fixação (Recomendado – Histofix, fixador EasyPath). A utilização de outros fixados nas práticas histológicas comuns (piocromoformol de Bouin, B5), temperatura do processamento, inclusão e desparafinização podem interferir na metodologia e tempos de incubações.

Garantia Grupo Erviegas

O Grupo Erviegas garante o funcionamento do produto conforme especificado nesta literatura. Para mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

Referências Bibliográficas

1. Nguyen TT, Schwartz EJ, West RB, Warnke RA, Arber DA, Natkunam Y. Expression of CD163(hemoglobin scavenger receptor) in normal tissues, lymphomas, carcinomas, and sarcomas is largely restricted to the monocyte/macrophage lineage. *Am J Surg Pathol*. 2005 May;29(5):617-24
2. Lau SK, Chu PG, Weiss LM. CD163: a specific marker of macrophages in paraffin-embedded tissue samples. *Am J Clin Pathol*. 2004 Nov;122(5):794-801
3. Pouryazdanparast P, Yu L, Cutlan JE, Olsen SH, Fullen DR, Ma L. Diagnostic value of CD163 in cutaneous spindle cell lesions. *J Cutan Pathol*. 2009 Aug;36(8):859-64
4. Sugaya M, Miyagaki T, Ohmatsu H, Suga H, Kai H, Kamata M, Fujita H, Asano Y, Tada Y, Kadono T, Okochi H, Sato S. Association of the numbers of CD163(+) cells in lesional skin and serum levels of soluble CD163 with disease progression of cutaneous T cell lymphoma. *J Dermatol Sci*. 2012 Oct;68(1):45-51
5. Medrek C, Pontén F, Jirstrom K, Leandersson K. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients. *BMC Cancer*. 2012 Jul 23;12:306
6. Mansfield AS, Heikkila P, von Smitten K, Vakkila J, Leidenius M. The presence of sinusoidal CD163(+) macrophages in lymph nodes is associated with favourable nodal status in patients with breast cancer. *Virchows Arch*. 2012 Dec;461(6):639-46