

## CD68 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (KP-1)

Mouse anti-human CD68 Monoclonal Antibody (Clone KP-1)

Código	EP-12-50833	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	KP-1
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1/k
• Imunógeno	:	Fração subcelular do alvéolo macrófagos humano.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Linfoma das amígdalas
• Marcação	:	Citoplasma

### 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 anti-CD68 marca as células da linhagem de monócitos / macrófagos. Este anticorpo é capaz de corar monócitos, células de Kupffer, osteoclastos, células NK, granulócitos e seus precursores; os linfomas são negativos ou mostram alguns grânulos. Este anticorpo pode ser útil para a identificação de tumores mielomonocíticos e histiocíticos. O anti-CD68 pode ajudar a distinguir o histiocitoma fibroso maligno de outros sarcomas pleomórficos. No entanto, uma vez que isto detecta um epítipo resistente à formalina que pode estar associado a grânulos lisossomais, outras células ricas em lisossomos também podem corar.

### 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 - Desparafinação - 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 (MuscaePlus / 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 desparafinar, 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 incubação horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

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

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinar 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 desparafinação 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

### Referências Bibliográficas

- 1.Pulford KAF, Rigney EM, Micklem KJ, Jones M, Stross WP, Gatter KC, et al. KP1: a new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. *J Clin Pathol*; 42: 414-421. 1989.
- 2.Baldus SE; Thiele J; Park YO; Charles A; Mross C; Hanisch FG; Zirbes TK; Wickenhauser C; Fischer R. Carbohydrate and peptide antigens in macrophage populations derived from human bone marrow and milk: an immunomorphological and immunochemical analysis. *Histochemical Journal*; 27(8):630-638.1995.
- 3.Gloghini A; Rizzo A; Zanette I; Canal B; Rupolo G; Bassi P; Carbone A. KP1/CD68 expression in malignant neoplasms including lymphomas, sarcomas, and carcinomas. *American Journal of Clinical Pathology*; 103(4):425-431.1995.
- 4.Maluf HM; DeYoung BR; Swanson PE; Wick MR. Fibroma and giant cell tumor of tendon sheath: a comparative histological and immunohistological study. *Modern Pathology*; 8(2):155-159.1995.
- 5.Mazal PR;Hainfellner JA; Preiser J; Czech T; Simonitsch I; Radaszkiewicz T; Budka H. Langerhans cell histiocytosis of the hypothalamus: diagnostic value of immunohistochemistry. *Clinical Neuropathology*;15(2):87-91.1996
- 6.Menke DM; Griesser H; Araujo I; Foss HD; Herbst H; Banks PM; Stein H. Inflammatory pseudotumors of lymph node origin show macrophage-derived spindle cells and lymphocyte-derived cytokine transcripts without evidence of T-cell receptor gene rearrangements. Implications for pathogenesis and classification as an idiopathic retroperitoneal fibrosis-like sclerosing immune reaction. *American Journal of Clinical Pathology*; 105(4): 430-439.1996.
- 7.Ono T; Muso E; Suyama K; Oyama A; Matsushima H; Yashiro M; Kuwahara T; Yoshida H; Kanatsu K; Sasayama S. Intraglomerular deposition of intact cross-linked fibrin in IgA nephropathy and Henoch-Schonlein purpura nephritis. *Nephron*;74(3):522-528.1996.
- 8.Roggendorf W; Strupp S; Paulus W. Distribution and characterization of microglia/macrophages in human brain tumors. *Acta Neuropathologica*;92(3):288-293.1996.
- 9.Tetlow LC; Woolley DE. Eosinophils are an insignificant cellular component of rheumatoid synovium in patients with late stage disease: comparative distributions with mast cells and macrophages. *Annals of the Rheumatic Diseases*; 55(8):548-551.1996
- 10.Zeng L; Takeya M; Ling X; Nagasaki A; Takahashi K. Interspecies reactivities of anti-human macrophage monoclonal antibodies to various animal species. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*; 44(8):845-853.1996.
- 11.Zelger B; Weinlich G; Steiner H; Zelger BG; Egarter-Vigl E. Dermal and subcutaneous variants of plexiform fibrohistiocytic tumor. *American Journal of Surgical Pathology*, 1997 Feb, 21(2):235-41.
- 12.Pernick NL, DaSilva M, Gangi MD, Crissman J, Adsay V. "Histiocytic markers" in melanoma. *Mod Pathol*;12:1072-1077.1999.