

Vírus Herpes Simplex I + II – Anticorpo Policlonal anti-humano*Rabbit anti-human Herpes Simplex Virus I+II Antibody (Polyclonal)***Código** **EP-12-51693** **1ml**

- Diluição recomendada : 1:20
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : Policlonal
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : -
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Tecido infectado (HSV I + II)
- Marcação : Citoplasma e Núcleo 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:

Os vírus herpes tipo 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2) pertencem à família dos herpesvídeos. Seu genoma consiste em uma molécula dupla linear de DNA de aproximadamente 100.000 kD, codificando mais de 75 produtos gênicos. A homologia entre a estrutura genômica do HSV-1 e 2 é de aproximadamente 50%, de modo que enquanto a maioria dos polipéptidos codificados para cada tipo de vírus do herpes têm uma estrutura semelhante e estão antígenicamente relacionados, existem numerosas proteínas de ambos os vírus que condicionam respostas particulares do sistema imunológico do hospedeiro e permitem a sua sorologia e diferenciação imuno-histoquímica. O anticorpo monoclonal aqui descrito reage com o vírus herpes simplex tipo 2 e é útil na detecção de lesões induzidas por HSV II. Em altas concentrações, foi observada reatividade cruzada contra algumas cepas do vírus varicela zoster. O anticorpo não reage contra as culturas do vírus CMV e Epstein-Barr.

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 entrarem 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 Citrato pH6 (Recomendado EP-12-20557/8 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 incubação horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

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

Duas séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: 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. Schenck P, Pietschmann S, Gelderblom H, et al.. Monoclonal antibodies against Herpes simplex virus type 1- infected nuclei defining and localising the ICP8 protein, 65k DNA-binding protein and polypeptides of the ICP35 family. J. Gen. Virol. 69: 99-111 (1988).
2. Li Y, Hidaka Y, Kino Y, et al.. Seroepidemiology of herpes simplex virus type 1 in Yanji, Jilin, China. Microbiol. Immunol. 34, 6: 551-555 (1990).
3. Martin JR, Holt RK, Langston C, Gilden DH, Richardson EP Jr, Manz HJ, Singer DB. Type-specific identification of herpes simplex and varicella-zoster virus antigen in autopsy tissues. Hum Pathol. 22:75-80 (1991).
4. Wilson P, Cropper L M, Patt R, et al.. Production of herpes simplex virus fluorescein labelled typing reagents. J. of Virol. Methods. 45: 19-26 (1993).
5. Vago L, Nebuloni M, Sala E, Cinque P, Bonetto S, Isella A, Ottoni L, Crociati A, Costanzi G. Coinfection of the central nervous system by cytomegalovirus and herpes simplex virus type 1 or 2 in AIDS patients: autopsy study on 82 cases by immunohistochemistry and polymerase chain reaction. Acta Neuropathol (Berl). 92: 404-408 (1996).
6. Fleming D, McQuillan G, Johnson R, et al: Herpes simplex virus type 2 in the United States, 1976 to 1994. N Engl J Med. 337: 1105–1111 (1997).