

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Cytokeratin
Clones AE1/AE3**

ESPAÑOL**N.º de catálogo M3515****Uso previsto**

Para uso en diagnóstico in vitro.

Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin, Clones AE1/AE3 se utiliza en procedimientos de inmunohistoquímica (IHC). El anticuerpo identifica dos epítomos presentes en la mayoría de citoqueratinas epiteliales en cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Los resultados ayudan a la clasificación de tejido normal y neoplásico como de origen epitelial¹⁻³. La clasificación diferencial de los tumores se complementa con los resultados de un panel de anticuerpos. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva, o su ausencia, deberá ser complementada con estudios morfológicos e histológicos con los controles adecuados. Las evaluaciones deben ser realizadas por una persona cualificada dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas. Este anticuerpo está indicado para su uso después de realizar el diagnóstico primario del tumor mediante histopatología convencional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Resumen y explicación

Las citoqueratinas son una familia de proteínas solubles en agua, con peso molecular que oscila entre 40 y 70 kD, que forman el citoesqueleto de las células epiteliales. Se han identificado al menos 19 citoqueratinas diferentes que pueden dividirse en dos subfamilias. La subfamilia A comprende las citoqueratinas relativamente ácidas (pI debajo de 5,5), mientras que la subfamilia B contiene un pI relativamente básico de 6 o más.

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHC.

Reactivo suministrado

Anticuerpo monoclonal de ratón proporcionado en forma líquida como sobrenadante de cultivo de tejido en 0,05 mol/l Tris-HCl, pH 7,2 y 0,015 mol/l de azida sódica. Este producto contiene proteína estabilizadora.

Clones: AE1/AE3^{1,2}Isotipo: IgG₁, kappa

Concentración de IgG de ratón en mg/l: Ver la etiqueta del vial.

M3515 puede utilizarse en una dilución 1:50 al llevar a cabo pruebas IHC usando los sistemas de detección EnVision, LSAB2 o EnVision FLEX. Estas solo son pautas orientativas. Las concentraciones óptimas de anticuerpo pueden variar dependiendo de la muestra y del método de preparación. Dichas concentraciones deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. El rendimiento de este anticuerpo debe ser establecido por parte del usuario si se utiliza con otros sistemas de tinción manual o plataformas automatizadas.

La concentración de proteína puede variar de un lote a otro, pero este cambio no afecta a la dilución óptima de uso. El título de cada lote se compara y ajusta mediante un lote de referencia para asegurar que el resultado de la tinción inmunohistoquímica sea consistente entre los distintos lotes.

InmunógenoCallosidades epidérmicas humanas¹**Especificidad**

AE1/AE3 es una mezcla de dos anticuerpos monoclonales que se obtienen inmunizando ratones con queratinas callosas humanas.² Se ha observado que AE1/AE3 identifica la mayoría de las citoqueratinas humanas y, por lo tanto, puede ser usado como herramienta para la identificación IHC positiva de células de origen epitelial estratificado y simple.^{1,2,4} El anticuerpo AE1 inmunorreacciona con un determinante antigénico presente en la mayoría de las citoqueratinas de la subfamilia A, incluidas citoqueratinas con la designación de Moll⁴ 10, 13, 14, 15, 16 y 19 (peso molecular de 56,5, 54, 50, 50, 48 y 40 kD, respectivamente), pero no los números 12, 17 y 18 (55, 47 y 45 kD).⁴ El anticuerpo AE3 reacciona con un determinante antigénico compartido con las citoqueratinas de la subfamilia B, que incluyen los números 1 y 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 (peso molecular de 65, 67, 64, 59, 58, 56, 54 y 52 kD, respectivamente).⁵

Material necesario, pero no suministrado

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako y/o las instrucciones del sistema de detección.

Precauciones

1. Para uso en diagnóstico in vitro.
2. Para usuarios profesionales.
3. Este producto contiene azida sódica (NaN₃), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la NaN₃ puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar acumulaciones de azidas metálicas muy explosivas. Tras desechar el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.⁶
4. Como con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deben utilizarse los procedimientos de manipulación apropiados.
5. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
6. Los reactivos que no se utilicen deberán desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y federales.

Almacenamiento

Almacénelo a una temperatura de 2-8 °C. No lo utilice después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad en este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. Si observa tinciones inesperadas que no puedan atribuirse a las variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospecha que existe un problema con el anticuerpo, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Dako.

Preparación de las muestras

Cortes de parafina

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido incluidos en parafina y fijados con formol.

Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Pretratamiento

Se recomienda el pretratamiento de los tejidos desparafinados con enzimas proteolíticas o la recuperación del epítipo inducida por calor. Para la recuperación del epítipo inducida por calor se obtuvieron resultados óptimos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (n.º de catálogo K8004). La recuperación del epítipo se pueden realizar en Dako PT Link (n.º de catálogo PT100/PT101/PT200). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link.

Como alternativa a la recuperación del epítipo inducida por calor, puede utilizarse un pretratamiento enzimático. Las siguientes enzimas pueden usarse para el pretratamiento de tejidos fijados con formol e incluidos en parafina: Proteinase K, RTU (n.º de catálogo S3020), Pepsin (n.º de catálogo S3002) o Proteolytic Enzyme, RTU (n.º de catálogo S3007). Aclare bien con agua destilada y continúe con el procedimiento de tinción según las instrucciones del sistema de detección.

No permita que las secciones de tejido se sequen durante el tratamiento ni durante el procedimiento de tinción inmunohistoquímica siguiente. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos de vidrio, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (n.º de catálogo K8020). Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un método de montaje permanente.

Procedimiento de tinción

Siga el procedimiento para el sistema de detección seleccionado. Los tejidos de control positivo y negativo, así como el reactivo de control negativo, deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente.

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular para AE1/AE3 es citoplasmático.

Limitaciones específicas del producto

1. Las células reticulares extrafolliculares de ganglios linfáticos, amígdala y bazo han presentado reacción con los anticuerpos frente a la citoqueratina 8.⁷
2. Se ha confirmado la presencia de citoqueratina 19 y posiblemente 8 en células musculares lisas del útero.⁸
3. Los melanomas raros⁹ y leiomiomas⁸ pueden teñirse positivamente. Este hallazgo es, en general, más frecuente en tejido congelado que en tejido fijado con formol.¹⁰ Por lo tanto, se recomienda utilizar AE1/AE3 en un panel con HMB45 (cuando se descarten los melanomas) y desmina (cuando se descarten los leiomiomas), dado que estos anticuerpos carecen de especificidad para las células epiteliales.
4. Se ha documentado tinción positiva falsa de células gliales en tejido fijado con formol e incluido en parafina cuando se empleó un tratamiento proteolítico previo. Se demostró mediante métodos inmunocitoquímicos y bioquímicos que dichas células y tumores no expresan citoqueratinas.¹¹
5. Pinkus et al.¹² recalcaron la importancia de la digestión proteolítica de los tejidos fijados con formol que van a ser teñidos con AE1/AE3. Las fotografías mostradas de tejidos teñidos incluyen los resultados de la omisión de la digestión con tripsina II, de la utilización de otras enzimas distintas a la tripsina y/o de la aplicación de técnicas de digestión subóptimas. En los últimos casos, solo 2/12 neoplasias epiteliales de varios tipos mostraron una tinción óptima para citoqueratina. Con la revisión de casos de inmunorreactividad conflictiva con la citoqueratina en publicaciones previas y con la comparación de los mismos con los suyos, Pinkus et al.¹² consideraron que muchos casos anteriores de falso negativo eran atribuibles a uno o varios de dichos defectos.
6. A partir de una comparación de AE1/AE3 con un anticuerpo anti-antígeno epitelial de membrana (EMA) en un estudio IHC de 87 neoplasias, incluidos 48 adenocarcinomas de varios tipos, Pinkus et al.¹³ concluyeron que las proteínas de citoqueratina en tejidos fijados con formol y tratados proteolíticamente y teñidos con AE1/AE3 eran marcadores más fiables en un 33% de los casos de neoplasias derivadas del epitelio que el anti-EMA. Sin embargo, como el EMA dio resultados positivos y AE1/AE3, negativos en un 9% de los casos, se recomienda que AE1/AE3 y anti-EMA se utilicen como reactivos complementarios.
7. Aunque Listrom y Dalton¹⁴ no observaron ninguna tinción positiva falsa, se observó tinción citoplasmática leve en 2/2 plasmacitomas, 2/4 melanomas y 2/7 linfomas, y fueron considerados como el resultado de una tinción inespecífica de fondo.

Características de resultados

Tejidos normales

El análisis de 30 tejidos normales diferentes presentó tinción positiva del citoplasma del epitelio escamoso y cilíndrico del cuello uterino, colon, esófago, piel, intestino delgado, estómago y amígdala. Entre otros tejidos que presentaron tinción se incluyeron el tejido glandular (mamarío, paratiroideo, prostático, sudoríparo y tiroideo), astrocitos, materia blanca del cerebro, filamentos gliales del cerebro, túbulo distal y cápsula de Bowman del riñón, conducto biliar, neumocitos, bronquios, mesotelio, conducto interlobulillar del páncreas, célula de la hipófisis anterior, conducto interlobulillar y células acinares de glándula salival, células reticulares y cuerpos de Hassall del timo, y endometrio y músculo liso del útero.¹⁵ Se observó tinción negativa en suprarrenales, médula ósea, corazón, pericardio, nervio periférico, músculo esquelético, bazo y testículo.

AE1/AE3 reacciona con la epidermis queratinizada (56,5/65-67) y corneal (55/64), epitelios escamosos estratificados de los órganos internos (51/59), epitelios estratificados (50/58), queratinocitos hiperproliferativos (48/56) y epitelios simples (45/52 y 46/54). La queratina de 40 kD está presente en la mayoría de los epitelios, excepto en la epidermis de adultos.^{3,4}

Tejidos anómalos

Listrom y Dalton¹⁴ analizaron clones de AE1/AE3 en tejidos patológicos en más de 60 neoplasias, linfomas, melanomas y sarcomas epiteliales poco diferenciados. Excepto por la tinción de solo 2/6 casos de carcinoma de células pequeñas y 3/5 de carcinoma de células de transición, el estudio halló que las 34 neoplasias epiteliales presentaron tinción. Cuando se marcaron, AE1/AE3 tiñó solo débilmente a los carcinomas de células de transición, y la tinción de las células tumorales fue citoplasmática difusa o perinuclear. Montag et al.¹⁶ hallaron que AE1/AE3 es un reactivo sensible para la clasificación del mesotelioma maligno difuso del tipo sarcomatoide (célula fusiforme) (positivo en 30/30 casos). Al compararlo con anti-EMA en un estudio de 87 neoplasias, incluyendo 48 adenocarcinomas de diversos tipos, Pinkus et al.¹³ hallaron que AE1/AE3 tiñó en el 33% de los casos de manera más confiable que el anti-EMA.

Aunque 3/3 casos de condroma condroide y 1/8 casos de linfoma reaccionaron con anti-AE1/AE3, no se observó tinción entre 25 neoplasias no epiteliales, incluyendo 4 casos de melanoma y glioblastoma.¹⁴ No se detectó citoqueratina en 8 casos de tumores no epiteliales, incluyendo melanoma, linfoma, neurofibroma y sarcoma cuando se usó AE1/AE3 en la técnica de inmunotransferencia.¹⁷ Sin embargo, se recomendó¹⁴ que AE1/AE3 formara parte de un panel de anticuerpos para la determinación del linaje celular en casos de neoplasias de células pequeñas poco diferenciadas.

Referencias

1. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, Huang JW, Woodcock-Mitchell J, Sun TTI. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: Monoclonal antibody studies. *Cell* 1982;30(2):361-72
2. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, Sun TT. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *J Cell Biol* 1982;95(2 Pt 1):580-8
3. Moll R, Franke WW, Schiller DI. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31(1):11-24
4. Sun T-T, Eichner R, Schermer A, Cooper D, Nelson WG, Weiss RA. Classification, expression and possible mechanisms of evolution of mammalian epithelial keratins: A unifying model. In: Levine A, Topp W, Vande Woude G, Watson JD (eds.). *Cancer cells 1 the transformed phenotype*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory 1984
5. Eichner R, Bonitz P, Sun T-T. Classification of epidermal keratins according to their immunoreactivity, isoelectric point and mode of expression. *J Cell Biol* 1984;98(4):1388-96
6. Department of Health, Education and Welfare, National Institute for Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ No. 78-127, Current 13. August 16, 1976
7. Franke WW, Moll R. Cytoskeletal components of lymphoid organs. *Differentiation* 1987;36(2):145-63
8. Gown AM, Boyd HC, Chang Y, Ferguson M, Reichler B, Tippens D. Smooth muscle cells can express cytokeratins of "simple" epithelium. *Amer J Pathol* 1988;132(2):223-32
9. Zarbo RJ, Gown AM, Nagle RB, Visscher DW, Crissman JD. Anomalous cytokeratin expression in malignant melanoma: One- and two-dimensional western blot analysis and immunohistochemical survey of 100 melanomas. *Mod Pathol* 1990;3(4):494-501
10. Brown DC, Theaker JM, Banks PM, Gatter KC, Mason DY. Cytokeratin expression in smooth muscle and smooth muscle tumors. *Histopathol* 1987;11(5):477-86
11. Bacchi CA, Zarbo RJ, Jiang JJ, Gown AM. Do glioma cells express cytokeratin? *Appl Immunohistochem* 1995;3(1):45-53
12. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, Corson JM. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *J Histochem Cytochem* 1985(5);33:465-73
13. Pinkus GS, Etheridge CL, O'Connor EM. Are keratin proteins a better tumor marker than epithelial membrane antigen? *Amer J Clin Pathol* 1986;85(3):269-77
14. Listrom MB, Dalton LW. Comparison of keratin monoclonal antibodies MAK-6, AE1:AE3 and CAM-5.2. *Amer J Clin Pathol* 1987;88(3):297-301
15. Report of Normal Tissue Immunohistochemical testing using DAKO Mouse Anti-Human Cytokeratin, Clone AE1/AE3. DAKO Corp June 1998
16. Montag AG, Pinkus GS, Corson JM. Keratin protein immunoreactivity of sarcomatoid and mixed types of diffuse malignant mesothelioma: An immunoperoxidase study of 30 cases. *Hum Pathol* 1988;19(3):336-42
17. Nelson WG, Battifora H, Santana H and Sun T-T. Specific keratins as molecular markers for neoplasms with a stratified epithelial origin. *Canc Res* 1984;44(4):1600-3

 REF	Número de catálogo		Límite de temperatura		Consulte las instrucciones de uso
	Fabricante		Código de lote		Fecha de caducidad
	Representante autorizado en la Comunidad Europea			Producto sanitario para diagnóstico in vitro	

PT0039/Rev C



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

 EC REP

Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

Edición 03/16