

Anti-Humano KAPPA F(ab')₂ policlonal

Fluorocromo	Referencia	Prueba
FITC	KF3-100T	100 pruebas
Ficoeritrina (PE)	KPE3-100T	100 pruebas



DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Clon: Policlonal

Isotipo: IgG F(ab')₂ de conejo

Aplicación probada: citometría de flujo

Inmunógeno: Cadenas ligeras de inmunoglobulina policlonal de tipo kappa aisladas de un grupo de sueros humanos para cadenas ligeras kappa anti-humanas de conejo.

Reactividad de las especies: Humana

Instrucciones de almacenamiento: conservar en un lugar oscuro a 2-8 °C.

Tampón de almacenamiento : solución tamponada acuosa que contiene estabilizador de proteínas y 0,09 % de azida de sodio (NaN₃).

Uso recomendado: kappa F(ab')₂ de Immunostep está destinado a la detección y enumeración simultánea de linfocitos B portadores de cadenas ligeras kappa en sangre periférica mediante citometría de flujo. Este reactivo es eficaz para la tinción de inmunofluorescencia directa de tejido humano para análisis citométrico de flujo utilizando 10 µl/10⁶ células.

Presentación: Anticuerpo policlonal de conejo contra cadenas ligeras kappa humanas, conjugado con un fluorocromo . Se suministra en una solución acuosa que contiene una proteína estabilizadora y azida sódica al 0,09 % (NaN₃) como conservante.

Fluorocromo	Suministrado reactivo	Concentración (mg/ml)	Volumen/prueba
FITC	100 pruebas	0,15	10 µL
PE	100 pruebas	0,1	10 µL

Fuente: Sobrenadante procedente de sueros para cadenas ligeras kappa anti-humanas de conejo.

Purificación: Cromatografía de afinidad.

RELEVANCIA CLÍNICA

Este marcador puede ser usado solo o en combinación con Otros marcadores de células B para el diagnóstico y seguimiento de diversas hematológico Neoplasias malignas e inmunodeficiencias . Los anticuerpos anti-kappa son esenciales en el inmunofenotipo. Análisis de poblaciones de células B, lo que permite la detección de patrones de expresión de cadenas ligeras que distinguir entre expansiones de células B policlonales y monoclonales .

En estado saludable En los individuos , las células B expresan cadenas ligeras kappa o lambda en una proporción equilibrada (normalmente alrededor de 2:1). Un significativo desviación de Esta proporción, en particular la presencia de una población dominante que expresa kappa, es indicativa de células B. clonalidad , un sello distintivo de las neoplasias malignas como crónica

linfocítico leucemia (LLC), linfomas no Hodgkin de células B y mieloma múltiple .

Citometría de flujo análisis utilizando anticuerpos anti-kappa es también valioso en la evaluación de inmunodeficiencias , donde las células B desarrollo o función puede ser deteriorado . Además , ayuda a distinguir reactivo policlonal respuestas de proliferaciones monoclonales neoplásicas , que es crítico para la precisión Diagnóstico y planificación del tratamiento .

DETALLES DEL ANTÍGENO

Descripción extensa: La evaluación de la expresión de kappa/lambda en la superficie celular permite identificar poblaciones de linfocitos B clonalmente restringidas y, por lo tanto, facilitar el diagnóstico de neoplasias hematológicas. Diversos trastornos de las células B se asocian con niveles reducidos de kappa/lambda en la superficie celular. ⁽¹⁻⁴⁾

PRINCIPIOS DE LA PRUEBA

El anticuerpo policlonal anti-kappa humano se une específicamente a las cadenas ligeras kappa expresadas en la superficie o el citoplasma de los linfocitos B. Para identificar estas células, la muestra se incuba con el anticuerpo conjugado con fluorocromo y se analiza mediante citometría de flujo. La intensidad de la fluorescencia refleja la presencia y abundancia relativa de cadenas ligeras kappa, lo que permite la caracterización de las poblaciones de linfocitos B y la evaluación de la clonalidad .

CONDICIONES ADECUADAS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Conservar en un lugar oscuro, refrigerado entre 2 °C y 8 °C. NO CONGELAR. El anticuerpo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial si se conserva entre 2 °C y 8 °C. No utilizar después de la fecha indicada.

Una vez abierto el vial, el producto es estable durante 90 días.

EVIDENCIA DE DETERIORO

No utilice los reactivos si observa cualquier indicio de deterioro. Para más información, póngase en contacto con nuestro servicio técnico: tech@immunostep.com La apariencia normal del producto es semitransparente , Líquido incoloro. No debe utilizarse si el medio líquido está turbio o contiene precipitados. Debe ser inodoro.

RECOMENDACIONES Y ADVERTENCIAS



- Los reactivos contienen azida sódica . En condiciones ácidas, se transforma en ácido hidrazoico, un compuesto altamente tóxico. Los compuestos de azida deben diluirse en agua corriente. Antes de desecharlo. Se recomiendan estas condiciones para evitar depósitos en las tuberías, donde podrían generarse condiciones explosivas. La ficha de datos de seguridad (FDS) está disponible en línea en www.immunostep.com.
- Evite la contaminación microbiana del reactivo.

- c) Proteger de la luz. Utilizar luz tenue durante la manipulación, la incubación con células y antes del análisis.
- d) Nunca pipetee con la boca.
- e) En caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua.
- f) Las muestras deben manipularse de la misma manera que las que pueden transmitir infecciones. Se deben garantizar procedimientos de manipulación adecuados.
- g) No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en el vial.
- h) Las desviaciones del procedimiento recomendado podrían invalidar los resultados del análisis.
- i) PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO* .
- j) Sólo para uso profesional.
- k) Antes de adquirir las muestras, es necesario asegurarse de que el citómetro de flujo esté calibrado y compensado.

2. Agregue 6 mL de tampón de lavado y mezcle bien, preferiblemente mediante un vórtex suave .
3. Llene el tubo hasta 10 mL agregando 4 mL adicionales de tampón de lavado.
4. Mezcle bien nuevamente mediante un suave vórtex .
5. Centrifugar a 540 g durante 5 minutos.
6. Deseche cuidadosamente el sobrenadante utilizando una pipeta Pasteur o un sistema de vacío, evitando alterar el pellet celular.
7. Resuspender el pellet con cuidado.
8. Repita los pasos 2 a 7 dos veces más (para un total de tres pasos de lavado).
9. Después del lavado final, resuspenda el pellet celular en 300 µL de tampón de lavado.
10. Continuar con el protocolo estándar para la tinción de anticuerpos de superficie o intracelulares.
11. Nota 1: Para muestras de pequeño volumen (por ejemplo, líquido cefalorraquídeo o aspirados vítreos), centrifugue todo el volumen a 540 g durante 5 minutos, deseche el sobrenadante y resuspenda en 300 µL de tampón de lavado antes de continuar.

RECOGIDA DE MUESTRAS

La extracción de muestras de sangre venosa debe realizarse en tubos de recolección de sangre utilizando el anticoagulante adecuado (EDTA o heparina) ^{7,8} . Para obtener resultados óptimos, la muestra debe procesarse durante las seis horas posteriores a la extracción. Las muestras que no puedan procesarse dentro de las 48 horas posteriores a la extracción deben desecharse. Por favor, consulte www.immunostep.com soporte técnico para más información.

GARANTÍA

Se garantiza únicamente la conformidad con la cantidad y el contenido indicados en la etiqueta o en el etiquetado del producto en el momento de la entrega al cliente. Immunostep renuncia por la presente a otras garantías. La única responsabilidad de Immunostep se limita a la sustitución de los productos o al reembolso del precio de compra.

Adquiera las muestras con un citómetro de flujo o consérvelas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 °C a 8 °C hasta que se realice el análisis. Las muestras deben adquirirse dentro de las 3 horas posteriores a la lisis.

1. MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Centrífugo
- Tubos de ensayo de citometría de flujo de 12 x 75 mm de uso común
- Micropipetas para dispensar volúmenes de 5 µl a 2 ml
- Tubos de recolección de sangre con anticoagulante.
- Solución salina tamponada con fosfato (PBS) con azida sódica al 0,09 % . Se recomienda añadir BSA al 0,5 %.
- Sistema de vacío
- Solución de lisis (Ref. RBC-10X)
- Citómetro de flujo equipado con láser y filtros fluorocromos adecuados
- Agitador Vortex

2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: PROCEDIMIENTO CON PRELAVADO

1. Pipetee 300 µL de muestra en un tubo Falcon de 10 mL.

3. ANÁLISIS DE CITOMETRÍA DE FLUJO

Recopile la señal de fluorescencia asociada al anticuerpo y determine el porcentaje de células con marcaje positivo . Se debe utilizar un control de isotipo conjugado con el mismo fluorocromo , isotipo de inmunoglobulina y concentración para evaluar y corregir la unión inespecífica a los linfocitos (véase "Materiales necesarios pero no suministrados "). Defina una ventana de análisis para excluir la fluorescencia de fondo e identificar con precisión las poblaciones de células con marcaje positivo .

4. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La incubación de anticuerpos con células durante procedimientos distintos a los recomendados puede provocar una reducción o pérdida de determinantes antigénicos de la superficie celular.
2. Los valores obtenidos de individuos normales pueden variar de un laboratorio a otro, por lo que se sugiere que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia normal.
3. Las células o líneas celulares anormales pueden presentar una mayor densidad antigénica que las células normales. En algunos casos, esto podría requerir el uso de una mayor cantidad de anticuerpo monoclonal que la indicada en los procedimientos de preparación de la muestra.
4. En muestras de sangre completa, los glóbulos rojos presentes en muestras anormales, así como los glóbulos rojos nucleados (tanto de muestras normales como anormales), pueden ser resistentes a la lisis. Podrían requerirse periodos más largos de lisis de los glóbulos rojos para evitar la inclusión de células no lisadas en la región de linfocitos.

- Las muestras de sangre no deben refrigerarse durante un período prolongado (más de 24 horas), ya que el número de células viables disminuirá gradualmente, lo que podría afectar el análisis. Para obtener los mejores valores, deben conservarse a temperatura ambiente inmediatamente antes de la incubación con el anticuerpo monoclonal.
- La obtención de resultados precisos con procedimientos citométricos de flujo dependen de la correcta alineación y calibración de los láseres, así como de la correcta configuración de las puertas.

5. VALORES DE REFERENCIA

Los resultados anormales en el porcentaje de células que expresan el antígeno o en sus niveles de expresión pueden deberse a afecciones patológicas. Es recomendable conocer los patrones normales de expresión del antígeno para asegurar una correcta interpretación de los resultados.^{4, 5, 6}

Los valores obtenidos de individuos sanos pueden variar de un laboratorio a otro, por lo que se sugiere que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia normal.

6. CARACTERÍSTICAS

ESPECIFICIDAD

El anticuerpo policlonal de conejo contra las cadenas ligeras kappa humana fragmento F(ab')₂ reconoce específicamente la cadena ligera kappa de las inmunoglobulinas, un polipéptido de 25 kDa codificado por el gen IGK en el cromosoma 2. Estas cadenas ligeras se expresan en la superficie de aproximadamente dos tercios de los linfocitos B maduros en sangre periférica, así como en un subconjunto de células B inmaduras en la médula ósea⁶. El anticuerpo se dirige tanto a las cadenas kappa superficiales como citoplasmáticas, lo que permite un análisis inmunofenotípico exhaustivo de las poblaciones de células B⁷.

Para evaluar la especificidad analítica, se llevaron a cabo dos enfoques experimentales complementarios:

1. Perfiles de población celular

Muestras de sangre periférica de donantes sanos se tiñeron utilizando un panel de citometría de flujo multicolor que incluía el anticuerpo de prueba (Kappa PE) y un anticuerpo de referencia. La expresión de cadenas ligeras kappa se analizó en subpoblaciones linfoides y mieloides. El anticuerpo de prueba mostró una unión consistente y específica a las células B CD19⁺, con una positividad media del 52,4% y una baja variabilidad (CV = 4,93%). Subpoblaciones como las células B vírgenes (CD27⁻/ IgD⁺), de memoria (CD27⁺/ IgD⁻) y las células B efectoras naturales (CD27⁺/ IgD⁺) se tiñeron positivamente, lo que confirmó una amplia reactividad dentro del compartimento de células B. Se observó una tinción mínima o nula en las células T (CD3⁺), las células NK y los granulocitos, lo que respalda la especificidad del anticuerpo.

2. Ensayo de bloqueo

Para evaluar la especificidad del epítipo y la posible reactividad cruzada, se realizó un experimento de bloqueo con un anticuerpo policlonal de referencia anti-kappa F(ab')₂. Las muestras se tiñeron simultáneamente con los anticuerpos de prueba y de referencia en combinaciones recíprocas. No se observó un bloqueo completo, lo que confirma que el anticuerpo de prueba se une a epítopos distintos o no solapados dentro de la cadena ligera kappa. Esto concuerda con el comportamiento esperado de los anticuerpos policlonales, que reconocen múltiples epítopos.

Estos resultados validan la especificidad analítica del anticuerpo para las cadenas ligeras kappa y respaldan su uso en aplicaciones de citometría de flujo para la caracterización de células B, la evaluación de la clonalidad y la evaluación de la inmunodeficiencia.

SENSIBILIDAD

La sensibilidad analítica del anticuerpo anti-kappa se evaluó mediante un modelo de dilución seriada con las líneas celulares Daudi (kappa⁺) y Namalwa (lambda⁺). Cada dilución se ajustó a una concentración final de 1 × 10⁵ células por tubo y se analizó por triplicado en nueve niveles de concentración, siguiendo el enfoque estadístico descrito en la guía del CLSI «Evaluación de la linealidad de los procedimientos de medición cuantitativa: Un enfoque estadístico; Guía aprobada», Apéndice C.

Marcador	R ²	LoD	LoB
FITC	0,996	1,72%	1,06%
PE	0,999	8,69%	7,64%

Se calculó la intensidad media de fluorescencia (MFI) para cada nivel de dilución. Los resultados demostraron una fuerte relación lineal entre el nivel de dilución y la MFI, con un coeficiente de determinación (R²) de 0,99, lo que indica una excelente linealidad en todo el rango de pruebas.

Estos hallazgos confirman que el anticuerpo proporciona una señal confiable y proporcional en una amplia gama de concentraciones de antígeno, lo que respalda su uso en aplicaciones de citometría de flujo cuantitativa.

PRECISIÓN

Repetibilidad

Se analizaron tres muestras para evaluar la variabilidad y repetibilidad intraensayo con un ensayo de 3 muestras con 3 réplicas y dos laboratorios. La desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV%) de cada muestra fueron:

Marcador	MFI medio	Repetibilidad DE	Repetibilidad %CV	DE dentro del sitio	%CV dentro del sitio
FITC	59,98	0,38	0,6	0,37	0,6
PE	54,09	2,23	4,12	1,75	3,24

Estos resultados demuestran una excelente repetibilidad y un rendimiento constante en diferentes lotes de reactivos y condiciones de prueba dentro del mismo laboratorio en condiciones de laboratorio controladas.

Precisión entre laboratorios

Se calculó la precisión entre laboratorios ensayando 3 muestras de 3 lotes diferentes en dos laboratorios con los siguientes resultados:

Marcador	DE entre laboratorios	%CV entre laboratorios	DE entre lotes	%CV entre lotes
FITC	0,24	0.40	0.62	1
PE	2.62	4.84	2.53	4.68

Esto confirma la consistencia del rendimiento de los anticuerpos en diferentes lotes de producción.

Reproducibilidad

La reproducibilidad se evaluó utilizando muestras estabilizadas (Transfix o Streck) procesadas en tres laboratorios independientes. Cada centro realizó cinco réplicas diarias durante cinco días no consecutivos.

La reproducibilidad se evaluó utilizando muestras estabilizadas procesadas en múltiples laboratorios. La variabilidad interdiaria e interlaboratorio fue la siguiente:

Marcador	Reproducibilidad SD	Reproducibilidad %CV
FITC	1.01	1.7
PE	4.04	7.47

Estos resultados confirman que el anticuerpo proporciona una tinción consistente y reproducible en diferentes laboratorios y condiciones de prueba.

7. GARANTÍA

Se garantiza únicamente la conformidad con la cantidad y el contenido indicados en la etiqueta o en el etiquetado del producto en el momento de la entrega al cliente. La única responsabilidad de Immunostep se limita a la sustitución de los productos o al reembolso del precio de compra.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Procedimientos para la recolección de muestras de sangre para diagnóstico mediante venopunción - Norma aprobada; Quinta edición (2003). Wayne PA: Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico; Documento H3-A5.
2. Procedimientos estándar para la recolección de muestras de sangre para diagnóstico", publicado por el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS)
3. Aplicaciones clínicas de la citometría de flujo: Control de calidad e inmunofenotipado de linfocitos; guía aprobada (1998). Wayne PA: Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico; Documento H42-A.
4. Kotylo PK et al. Rangos de referencia para subpoblaciones linfocitarias en pacientes pediátricos . Am J Clin Pathol 100:111-5 (1993)
5. Reichert et al. Rangos de referencia de subgrupos linfocitarios en adultos caucásicos. Clin. Inmunol Inmunopatología 60:190-208 (1991)
6. Malcolm S, Barton P, Murphy C, Ferguson-Smith MA, Bentley DL, Rabbitts TH. Localización de genes de la región variable de la cadena ligera kappa de inmunoglobulina humana en el brazo corto del cromosoma 2 mediante hibridación in situ. Proc Natl Acad Sci US A. 1982 agosto ;79 (16):4957-61.

7. Orfao A, Matarraz S, Perez-Andrews M, Almeida J, Teodosio C, Berkowska MA, van Dongen JJM; Euroflujo . Disección inmunofenotípica de la hematopoyesis normal . Métodos J Immunol . diciembre de 2019 ; 475: 1
8. CLSI EP05-A3. Evaluación de la precisión de los procedimientos de medición cuantitativa; Directrices aprobadas, tercera edición.
9. Rijkers GT1, Scharenberg JG, Van Dongen JJ, Neijens HJ, Zegers BJ. Transducción de señales anormales en un paciente con enfermedad de inmunodeficiencia combinada grave. Res. Pediatra . 1991 marzo;29
10. Walker CM, Moody DJ, Stites DP, Levy JA. Los linfocitos CD8+ pueden controlar la infección por VIH in vitro al suprimir la replicación viral. Science. 19 de diciembre de 1986.

9. FABRICADO POR



Immunostep S.L

Avda. Universidad de Coimbra, s/n
Cancer Research Center (CIC)
Campus Miguel de Unamuno
37007 Salamanca (Spain)
Tel. (+34) 923 294 827
www.immunostep.com

10. VIGILANCIA Y NOTIFICACIÓN



De acuerdo con el Anexo I, sección 20.4.1(n) del Reglamento (UE) 2017/746, el usuario tiene la obligación de notificar cualquier incidente grave relacionado con el uso del producto.

- **Al Fabricante:** Contacte con nuestro departamento de Vigilancia en vigilancia@immunostep.com
- **A la Autoridad Competente:** Notifique a través de los canales oficiales del Estado miembro.

11. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS



CE etiquetado



In vitro dispositivo de diagnóstico



Fabricado



Presta atención a