

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Ki67 Antigen

## Product Code: NCL-L-Ki67-MM1

Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park West  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)  
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#)

### Instructions for Use

Please read before using this product.

### Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

### Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

### Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

### Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

### Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

### Instruktioner vid Användning

Vår god läs innan ni använder produkten.

### Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

### Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

### Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

### Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

### Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

### Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

### Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

### Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

### Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

### Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

### Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

### Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

### Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

### Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf

Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificatiți integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody

## Ki67 Antigen

### Product Code: NCL-L-Ki67-MM1

#### Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-Ki67-MM1 is intended for the qualitative identification by light microscopy of Ki67 Antigen molecules in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

#### Principle of Procedure

Immunohistochemical (IHC) staining techniques allow for the visualization of antigens via the sequential application of a specific antibody to the antigen (primary antibody), a secondary antibody to the primary antibody and an enzyme complex with a chromogenic substrate with interposed washing steps. The enzymatic activation of the chromogen results in a visible reaction product at the antigen site. The specimen may then be counterstained and coverslipped. Results are interpreted using a light microscope and aid in the differential diagnosis of pathophysiological processes, which may or may not be associated with a particular antigen.

#### Clone

MM1

#### Immunogen

Prokaryotic recombinant fusion protein corresponding to a 1086 bp Ki67 motif-containing cDNA fragment.

#### Specificity

Human Ki67 nuclear antigen expressed in all proliferating cells during late G1, S, M and G2 phases of the cell cycle.

#### Reagent Composition

NCL-L-Ki67-MM1 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

#### Ig Class

IgG1

#### Total Protein Concentration

Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

#### Antibody Concentration

Greater than or equal to 84 mg/L. Refer to vial label for lot specific Ig concentration.

#### Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

**Heat Induced Epitope Retrieval (HIER):** Please follow the instructions for use in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Suggested dilution:** 1:200 for 30 minutes at 25 °C. This is provided as a guide and users should determine their own optimal working dilutions.

**Visualization:** Please follow the instructions for use in the Novolink™ Polymer Detection Systems. For further product information or support, contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

The performance of this antibody should be validated when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

#### Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not freeze. Return to 2–8 °C immediately after use. Do not use after expiration date indicated on the vial label. Storage conditions other than those specified above must be verified by the user.

#### Specimen Preparation

The recommended fixative is 10% neutral-buffered formalin for paraffin-embedded tissue sections.

#### Warnings and Precautions

This reagent has been prepared from the supernatant of cell culture. As it is a biological product, reasonable care should be taken when handling it.

This reagent contains sodium azide. A Material Safety Data Sheet is available upon request or available from [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.

Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.

Incubation times or temperatures, other than those specified, may give erroneous results. Any such changes must be validated by the user.

## Quality Control

Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results, necessitating regular performance of in-house controls in addition to the following procedures.

Controls should be fresh autopsy/biopsy/surgical specimens, formalin-fixed, processed and paraffin wax-embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s).

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

One positive tissue control should be included for each set of test conditions in each staining run.

A tissue with weak positive staining is more suitable than a tissue with strong positive staining for optimal quality control and to detect minor levels of reagent degradation.<sup>2</sup>

Recommended positive control tissue is tonsil.

If the positive tissue control fails to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

## Negative Tissue Control

Should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of the target antigen by the primary antibody.

Recommended negative control tissue is cerebellum.

Alternatively, the variety of different cell types present in most tissue sections frequently offers negative control sites, but this should be verified by the user.

Non-specific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain non-specifically.<sup>3</sup> False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by endogenous enzymes such as pseudoperoxidase (erythrocytes), endogenous peroxidase (cytochrome C), or endogenous biotin (eg. liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used. To differentiate endogenous enzyme activity or non-specific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate chromogen or enzyme complexes (avidin-biotin, streptavidin, labeled polymer) and substrate-chromogen, respectively. If specific staining occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

## Negative Reagent Control

Use a non-specific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate non-specific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site.

## Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-Ki67-MM1 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

## Results Expected

### Normal Tissues

Clone MM1 detected the Ki67 antigen in the nucleus of proliferating cells in 11/44 normal cases evaluated, including proliferating cells within crypts of ileum, cecum, colon and rectum, proliferating cells within lymph node, thymus, para and suprabasal cells of the tongue, epithelial and stromal cell elements of pro-endometrium, germinal center elements of tonsil, ductal cell elements of breast and occasional cells in supra and parabasal layers of esophagus. (Total number of normal cases evaluated = 44).

### Abnormal Tissues

Clone MM1 stained 26/70 tumors evaluated, including breast tumors (12/29, including 11/26 ductal carcinomas and 1/1 medullary carcinoma), lung tumors (3/4, including 2/2 non-small cell carcinoma and 1/1 squamous cell carcinoma), ovarian tumors (2/4, including 2/2 cystadenocarcinomas), thyroid papillary carcinomas (1/4), liver tumors (1/4, including 1/1 metastatic carcinomas), squamous cell carcinomas of the cervix (2/2), colon adenocarcinomas (2/2), renal cell carcinomas (1/2), squamous cell carcinomas of the esophagus (1/1), squamous cell carcinomas of the tongue (1/2), brain tumors (0/2), adenocarcinomas of the stomach (0/2), soft tissue tumors (0/2), metastatic tumors of unknown origin (0/2), testicular seminomas (0/2), adenocarcinomas the rectum (0/2), skin tumors (0/2), a squamous cell carcinoma of the larynx (0/1), an atypical carcinoid tumor of the thymus (0/1). (Total number of tumor cases evaluated = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 is recommended for the assessment of cell proliferation in normal and neoplastic tissues.**

## General Limitations

Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.

Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the tissue.<sup>4</sup> Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Antibodies from Leica Biosystems Newcastle Ltd are for use, as indicated, on either frozen or paraffin-embedded sections with specific fixation requirements. Unexpected antigen expression may occur, especially in neoplasms. The clinical interpretation of any stained tissue section must include morphological analysis and the evaluation of appropriate controls.

## Bibliography - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Amendments to Previous Issue

Antibody Concentration.

## Date of Issue

05 December 2018

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal Liquide de Souris Ki67 Antigen

## Référence du Produit: NCL-L-Ki67-MM1

### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-Ki67-MM1 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la molécule Ki67 Antigen sur des coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

### Principe de la Procédure

Les techniques de marquage immunohistochimique (IHC) permettent la visualisation des antigènes via l'application séquentielle d'un anticorps spécifique sur un antigène (anticorps primaire), d'un anticorps secondaire sur l'anticorps primaire et d'un complexe enzymatique comportant un substrat chromogène, avec des étapes de lavage intercalées. L'activation enzymatique du chromogène se traduit par la présence d'un produit de réaction visible au niveau du site de l'antigène. Le spécimen peut ensuite faire l'objet d'une coloration de contraste et être placé sous une lamelle. Les résultats sont interprétés à l'aide d'un microscope optique et participent au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, susceptibles, ou non, d'être associés à un antigène particulier.

### Clone

MM1

### Immunogène

Protéine procaryote de fusion recombinante correspondant à un fragment d'ADNc contenant un motif de 1086 bp du Ki67.

### Spécificité

Antigène nucléaire Ki67 humain exprimé dans toutes les cellules en prolifération pendant les phases G1, S, M et G2 du cycle cellulaire.

### Composition du Réactif

Le NCL-L-Ki67-MM1 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azide de sodium comme conservateur.

### Classe d'Ig

IgG1

### Concentration Totale en Protéines

Total Protein

La concentration totale en protéines, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 84 mg/l. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER):** Veuillez respecter le mode d'emploi de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Dilution préconisée:** 1:200 durant 30 minutes à 25 °C. Ceci n'est donné qu'à titre indicatif et les utilisateurs doivent déterminer leurs propres dilutions de travail optimales.

**Visualisation:** Veuillez respecter le mode d'emploi des Novolink™ Polymer Detection Systems. Pour plus d'informations sur le produit ou pour toute assistance, contactez votre représentant local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou sinon rendez vous sur le site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) de Leica Biosystems.

Les performances de cet anticorps devront être validées lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuels ou plates-formes automatisées.

### Conservation et Stabilité

Conserver à 2–8 °C. Ne pas congeler. Remettre immédiatement à 2–8 °C après utilisation. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient. Les conditions de conservation autres que celles qui sont spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur.

### Préparation des Spécimens

Le fixateur recommandé est le formol à 10%, tamponné, neutre, pour coupes tissulaires incluses en paraffine.

### Mises en Garde et Précautions

Ce réactif a été préparé à partir du surnageant d'une culture cellulaire. Du fait de sa nature de produit biologique, sa manipulation doit faire l'objet du plus grand soin.

Ce réactif contient de l'azide de sodium. Une Fiche de données de sécurité est disponible sur demande ou sur le site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales en vigueur relatives à l'élimination de tous les éléments potentiellement toxiques.

Les spécimens, avant et après fixation, ainsi que toutes les matières ayant été en contact avec eux, doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et être éliminés en respectant les précautions appropriées<sup>1</sup>. Ne jamais pipeter les réactifs avec la bouche et éviter tout contact des réactifs et des spécimens avec la peau et les membranes muqueuses. Rincer avec de grandes quantités d'eau en cas de contact des réactifs ou des spécimens avec des zones sensibles. Consulter un médecin.

Minimiser la contamination microbienne des réactifs sinon un accroissement du marquage non spécifique est susceptible de se produire.

Des durées et des températures d'incubation différentes de celles qui ont été spécifiées sont susceptibles de conduire à des résultats erronés. Toutes les modifications doivent être validées par l'utilisateur.

## Contrôle de Qualité

Des différences de traitement des tissus et de procédures techniques du laboratoire de l'utilisateur sont susceptibles de conduire à une variabilité significative des résultats, ce qui rend nécessaire la mise en œuvre de contrôles en interne en plus des procédures suivantes.

Les contrôles doivent être des spécimens frais provenant d'autopsies, de biopsies ou d'interventions chirurgicales, fixés au formol, traités et inclus en cire de paraffine dès que possible, de la même façon que le(s) échantillon(s) de patient.

## Tissu de Contrôle Positif

Il est utilisé pour indiquer que les tissus ont été préparés correctement et que les techniques de marquage étaient appropriées.

Un contrôle tissulaire positif doit être inclus dans toute opération de marquage pour chaque ensemble de conditions d'analyse.

Un tissu présentant un marquage faiblement positif est plus adapté à un contrôle de qualité optimal qu'un tissu présentant un marquage fortement positif et il permet de détecter de moindres niveaux de dégradation du réactif.<sup>2</sup>

Le tissu de contrôle positif recommandé est les amygdales.

Si le tissu de contrôle positif ne présente pas de marquage positif, les résultats des spécimens analysés doivent être considérés comme invalides.

## Tissu de Contrôle Négatif

Il doit être examiné après le tissu de contrôle positif afin de vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire.

Le cervelet constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

Sinon, la diversité des types cellulaires présents dans la plupart des tissus permet de disposer fréquemment de sites de contrôle négatif, mais ils doivent être vérifiés par l'utilisateur.

S'il est présent, le marquage non spécifique prend habituellement une apparence diffuse. Un marquage sporadique du tissu conjonctif peut également être observé sur des coupes de tissus qui ont été fixées par un excès de formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats du marquage. Les cellules nécrotiques ou dégénérées sont souvent marquées de façon non spécifique.<sup>3</sup> Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique à des protéines ou à des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (foie, sein, cerveau, rein, par exemple) selon le type d'immunomarquage utilisé. Pour différencier l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être marqués exclusivement avec le substrat chromogène ou par des complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) et le substrat chromogène respectivement. Si un marquage spécifique se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats des spécimens du patient doivent être considérés comme invalides.

## Réactif de Contrôle Négatif

Utiliser un réactif de contrôle négatif non spécifique à la place de l'anticorps primaire avec une coupe de chaque spécimen du patient afin d'évaluer le marquage non spécifique et de permettre une meilleure interprétation du marquage spécifique au niveau du site antigénique.

## Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-Ki67-MM1 en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

## Résultats Attendus

### Tissus normaux

Le clone MM1 a détecté l'antigène Ki67 dans le noyau de cellules proliférantes dans 11/44 cas normaux évalués, dont des cellules proliférantes dans les cryptes de l'iléon, le caecum, le côlon et le rectum, des cellules proliférantes dans les ganglions lymphatiques, le thymus, les cellules parabasales et suprabasales de la langue, des éléments de cellules épithéliales et stromales du pro-endomètre, des éléments des centres germinatifs des amygdales, des éléments de cellules canalaire du sein et des cellules occasionnelles dans les couches suprabasales et parabasales de l'œsophage. (Nombre total de cas normaux évalués = 44).

### Tissus tumoraux

Le clone MM1 a marqué 26/70 tumeurs évaluées, dont des tumeurs du sein (12/29, dont 11/26 carcinomes canalaire et 1/1 carcinome médullaire), des tumeurs du poumon (3/4, dont 2/2 carcinomes à grandes cellules et 1/1 carcinome squameux), des tumeurs de l'ovaire (2/4, dont 2/2 cystadénocarcinomes), des carcinomes papillaires de la thyroïde (1/4), des tumeurs du foie (1/4, dont 1/1 carcinome métastatique), des carcinomes squameux du col utérin (2/2), des adénocarcinomes coliques (2/2), des carcinomes à cellules rénales (1/2), des carcinomes squameux de l'œsophage (1/1), des carcinomes squameux de la langue (1/2), des tumeurs cérébrales (0/2), des adénocarcinomes de l'estomac (0/2), des tumeurs des tissus mous (0/2), des tumeurs métastatiques d'origine inconnue (0/2), des séminomes testiculaires (0/2), des adénocarcinomes du rectum (0/2), des tumeurs de la peau (0/2), un carcinome squameux du larynx (0/1), une tumeur carcinoïde atypique du thymus (0/1). (Nombre total de cas de tumeur évalués = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 est recommandé pour l'évaluation de la prolifération cellulaire dans les tissus sains et néoplasiques.**

## Limites Générales

L'immunohistochimie est un processus diagnostique constitué de plusieurs étapes qui nécessite une formation spécialisée relative au choix des réactifs appropriés ; au choix, à la fixation et au traitement des tissus ; à la préparation des lames IHC ; et à l'interprétation des résultats du marquage.

Le marquage des tissus dépend de leur manipulation et de leur traitement avant le marquage. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe, incorrects ou une contamination par d'autres tissus ou d'autres liquides sont susceptibles de conduire à la production d'artefacts, au piégeage de l'anticorps ou à des résultats faussement négatifs. Des variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion, ainsi que des irrégularités propres au tissu, peuvent conduire à des résultats incohérents.<sup>4</sup>

Une coloration de contraste excessive ou incomplète peut gêner l'interprétation correcte des résultats.

L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Les anticorps de Leica Biosystems Newcastle Ltd sont destinés, selon les besoins, à être utilisés sur des coupes incluses en paraffine ou des coupes congelées, et conformément à des exigences particulières en matière de fixation. Une expression antigénique inattendue est susceptible de se produire, en particulier au niveau des néoplasmes. L'interprétation clinique de toute coupe tissulaire marquée doit comporter une analyse morphologique et l'évaluation des contrôles appropriés.

## Bibliographie Générale

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

Concentration en Anticorps.

## Date de Publication

05 décembre 2018



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido

## Ki67 Antigen

### Codice Del Prodotto: NCL-L-Ki67-MM1

#### Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-Ki67-MM1 è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica della molecole Ki67 Antigen, in sezioni incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

#### Principio Della Procedura

Le tecniche di colorazione immunostochimica (IHC) consentono la visualizzazione degli antigeni mediante l'applicazione sequenziale di un anticorpo specifico per l'antigene (anticorpo primario), di un anticorpo secondario che lega l'anticorpo primario e di un complesso enzimatico con un substrato cromogeno; l'applicazione dei tre reagenti è intervallata da fasi di lavaggio. L'attivazione enzimatica del cromogeno produce una reazione visibile in corrispondenza del sito antigenico. Il campione biologico può, quindi, essere controcolorato e montato. I risultati vengono interpretati mediante un microscopio ottico e sono utili nella diagnosi differenziale di processi fisiopatologici, che possono essere più o meno associati ad un particolare antigene.

#### Clone

MM1

#### Immunogeno

Proteina di fusione ricombinante procariotica, corrispondente al frammento cDNA contenente il motivo strutturale 1086 bp Ki67.

#### Specificità

Antigene nucleare Ki67 umano, espresso in tutte le cellule proliferanti durante le fasi G1 tardiva, S, M e G2 del ciclo cellulare.

#### Composizione Del Reagente

NCL-L-Ki67-MM1 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente di sodio azide come conservante.

#### Classe Ig

IgG1

#### Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione proteica totale specifica del lotto.

#### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 84 mg/l. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

#### Raccomandazioni Per L'uso

Immunostochimica su sezioni incluse in paraffina.

**Smascheramento antigenico termoindotto (HIER):** Si prega di seguire le istruzioni per l'uso fornite in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluizione raccomandata:** 1:200 per 30 minuti a 25 °C. Queste raccomandazioni costituiscono delle semplici linee guida; spetta al singolo utente stabilire le diluizioni di lavoro ottimali.

**Visualizzazione:** Si raccomanda di seguire le istruzioni per l'uso dei Novolink™ Polymer Detection Systems. Per ulteriori informazioni sui prodotti o assistenza, contattare il distributore di zona o la sede regionale di Leica Biosystems, oppure visitare il sito internet di Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

La resa di questo anticorpo deve essere validata quando viene utilizzato con altri metodi di colorazione manuale o piattaforme automatizzate.

#### Conservazione E Stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non congelare. Immediatamente dopo l'uso, raffreddare di nuovo a 2–8 °C. Non usare dopo la data di scadenza, indicata sull'etichetta del flacone. Condizioni di conservazione diverse da quelle sopra specificate vanno verificate dall'utente.

#### Preparazione Del Campione Biologico

Il fissativo raccomandato è la formalina tamponata neutra al 10% per sezioni tissutali incluse in paraffina.

#### Avvertenze E Precauzioni

Questo reagente è stato preparato dal supernatante di coltura cellulare. Trattandosi di un prodotto biologico, va maneggiato con cautela. Questo reagente contiene sodio azide. Una scheda di sicurezza del prodotto (MSDS) è disponibile su richiesta o dal sito [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Fare riferimento alla normativa federale, statale o locale per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.

Prima e dopo la fissazione, i campioni biologici e tutti i materiali ad essi esposti vanno trattati come potenzialmente infettanti e smaltiti con le appropriate precauzioni. Non pipettare i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con zone sensibili, sciacquare abbondantemente le parti interessate. Consultare il medico.

Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti, allo scopo di evitare un aumento di colorazione aspecifica.

Tempi o temperature d'incubazione diversi da quelli specificati possono condurre a risultati non veritieri. Tali variazioni devono essere convalidate dall'utente.

### **Controllo Qualità**

Differenze nella processazione del tessuto e nelle tecniche in uso presso il laboratorio dell'utente possono produrre una discrepanza significativa nei risultati, rendendo necessaria la regolare esecuzione di controlli interni, in aggiunta alle procedure descritte di seguito.

I controlli devono essere costituiti da campioni biologici freschi autoptici/bioptici/chirurgici e devono essere il più rapidamente possibile fissati in formalina, processati ed inclusi in paraffina, allo stesso modo dei campioni biologici ottenuti dal paziente.

### **Controllo Positivo Del Tessuto**

È usato per indicare tessuti correttamente preparati e tecniche di colorazione appropriate.

Per ogni gruppo di condizioni del test e ogni volta che viene eseguita la colorazione, deve essere incluso un controllo positivo del tessuto.

Un tessuto a debole colorazione positiva è più adatto di uno a colorazione positiva intensa per un ottimale controllo qualità e per mettere in evidenza anche minimi livelli di degradazione del reagente.<sup>2</sup>

Il tessuto raccomandato per il controllo positivo è la tonsilla.

Se il controllo positivo del tessuto non dimostra colorazione positiva, i risultati con i campioni biologici del test vanno considerati non validi.

### **Controllo Negativo Del Tessuto**

Va esaminato dopo il controllo positivo, per verificare la specificità nei confronti dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario.

Il tessuto raccomandato per il controllo negativo è il cervelletto.

In alternativa, la varietà dei tipi cellulari presenti nella maggior parte delle sezioni tissutali offre spesso siti di controllo negativo, ma questo va verificato dall'utente.

La colorazione aspecifica, se presente, assume di solito aspetto diffuso. La colorazione sporadica del tessuto connettivo può anche manifestarsi in seguito ad iperfissazione di sezioni di tessuto in formalina. Per l'interpretazione dei risultati della colorazione, usare cellule intatte. Le cellule necrotiche o degenerate si colorano spesso in maniera aspecifica<sup>3</sup>. Si possono osservare risultati falsamente positivi, dovuti a legame non immunologico delle proteine o a prodotti di reazione del substrato. Tali falsi positivi possono essere anche causati da enzimi endogeni quali la pseudoperossidasi (eritrociti), la perossidasi endogena (citocromo C) o la biotina endogena (es. fegato, mammella, cervello, rene), a seconda del tipo di immunocolorazione usato. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame enzimatico aspecifico dall'immunoreattività specifica, possono essere colorati ulteriori tessuti del paziente esclusivamente con substrato cromogeno o con complessi enzimatici (avidina-biotina, streptavidina, polimero marcato) e substrato cromogeno. Se nel controllo negativo del tessuto compare una colorazione specifica, i risultati sui campioni biologici ottenuti dal paziente devono essere considerati non validi.

### **Controllo Negativo Del Reagente**

Usare un controllo negativo aspecifico del reagente in luogo dell'anticorpo primario, con una sezione di ogni campione biologico del paziente, per valutare la colorazione aspecifica e per consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica in corrispondenza del sito antigenico.

### **Tessuto Del Paziente**

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-Ki67-MM1. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunostochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

### **Risultati Attesi**

#### Tessuti normali

Il clone MM1 ha rilevato l'antigene Ki67 nel nucleo delle cellule proliferanti in 11/44 casi normali valutati, tra cui cellule proliferanti all'interno delle cripte di ileo, intestino cieco, colon e retto, cellule proliferanti all'interno di linfonodi, timo, cellule parabasali e sobrabasali della lingua, elementi cellulari epiteliali e stromali del pro-endometrio, elementi del centro germinale delle tonsille, elementi cellulari duttali della mammella e cellule occasionali negli strati sobrabasali e parabasali dell'esofago. (Numero complessivo di casi normali valutati = 44).

#### Tessuti tumorali

Il clone MM1 ha colorato 26/70 tumori valutati, tra cui tumori della mammella (12/29, inclusi 11/26 carcinomi duttali e 1/1 carcinoma midollare), tumori del polmone (3/4, inclusi 2/2 carcinomi non a piccole cellule e 1/1 carcinoma a cellule squamose), tumori dell'ovaio (2/4, inclusi 2/2 cistoadenocarcinomi), carcinomi papillari della tiroide (1/4), tumori del fegato (1/4, inclusi 1/1 carcinomi metastatici), carcinomi a cellule squamose della cervice (2/2), adenocarcinomi del colon (2/2), carcinomi a cellule renali (1/2), carcinomi a cellule squamose dell'esofago (1/1), carcinomi a cellule squamose della lingua (1/2), tumori del cervello (0/2), adenocarcinomi dello stomaco (0/2), tumori dei tessuti molli (0/2), tumori metastatici di origine sconosciuta (0/2), seminomi testicolari (0/2), adenocarcinomi del retto (0/2), tumori della pelle (0/2), un carcinoma a cellule squamose della laringe (0/1), un tumore carcinoide atipico del timo (0/1). (Numero complessivo di casi di tumore valutati = 70).

**Si raccomanda l'uso di NCL-L-Ki67-MM1 per la valutazione della proliferazione cellulare in tessuti normali e neoplastici.**

### **Limitazioni Generali**

L'immunostochimica è un procedimento diagnostico a più passi (multistep) che richiede un'esperienza specifica nella selezione dei reagenti appropriati, nella selezione, fissazione e processazione dei tessuti, nella preparazione di vetrini IHC e nell'interpretazione dei risultati della colorazione.

La colorazione del tessuto dipende dalle modalità di manipolazione e di processazione del tessuto stesso, adottate prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento o la sezione condotti in modo non corretto, o la contaminazione con altri tessuti o liquidi, possono produrre artefatti, intrappolamento (trapping) anticorpale o risultati falsi negativi. Risultati incompatibili possono essere dovuti a modifiche dei metodi di fissazione e di inclusione o ad irregolarità intrinseche al tessuto.<sup>4</sup>

Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.

L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

Gli anticorpi di Leica Biosystems Newcastle Ltd. sono destinati all'uso, quando indicato, su sezioni congelate o incluse in paraffina, con specifici requisiti di fissazione. Un'espressione antigenica inattesa può manifestarsi in particolare nelle neoplasie. L'interpretazione clinica di ogni sezione tissutale colorata deve includere l'analisi morfologica e la valutazione dei controlli appropriati.

## Riferimenti Bibliografici Di Base

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

Concentrazione Anticorpale.

## Data Di Pubblicazione

05 dicembre 2018

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper

## Ki67 Antigen

### Produkt-Nr.: NCL-L-Ki67-MM1

#### Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-Ki67-MM1 ist für den qualitativen Nachweis der Ki67 Antigen-Moleküle in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie gedacht. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

#### Verfahrensgrundlage

Immunhistochemische (IHC) Färbetechniken gestatten die optische Darstellung von Antigenen mittels sequentieller Anwendung eines spezifischen Antikörpers zum Antigen (primärer Antikörper), eines sekundären Antikörpers zum primären Antikörper und eines Enzymkomplexes mit einem chromogenen Substrat, jeweils getrennt durch dazwischen liegende Waschschrte. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt am Ort des Antigens. Die Probe kann dann gegengefärbt und mit einem Deckglas versehen werden. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichtmikroskops interpretiert und unterstützen die Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die mit einem bestimmten Antigen assoziiert sein könnten.

#### Klon

MM1

#### Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Fusionsprotein, das einem das 1086 bp Ki67 Motiv enthaltenden cDNA-Fragment entspricht.

#### Spezifität

Humanes nukleäres Ki67-Antigen, das in allen proliferierenden Zellen in den späten G1-, S-, M- und G2-Phasen des Zellzyklus exprimiert wird.

#### Reagenzzusammensetzung

NCL-L-Ki67-MM1 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der 15 mmol/l Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

#### Ig-Klasse

IgG1

#### Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

#### Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 84 mg/l. Hinsichtlich der chargenspezifischen Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

#### Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten

**Hitzeeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER):** Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 befolgen.

**Empfohlene Verdünnung:** 1:200 über einen Zeitraum von 30 Minuten bei 25°C. Dies ist nur eine Empfehlung, und die Benutzer sollten ihre eigenen optimalen Arbeitsverdünnungen bestimmen.

**Visualisierung:** Bitte Gebrauchsanweisung für Novolink™ Polymer Detection Systems befolgen. Wenn Sie weitere Produktinformationen oder Unterstützung wünschen, setzen Sie sich bitte mit ihrem Händler vor Ort oder mit der Zweigniederlassung von Leica Biosystems in Verbindung beziehungsweise besuchen Sie die Internetseite von Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)"

Die Leistungsfähigkeit dieses Antikörpers sollte bestätigt werden, wenn er mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Plattformen eingesetzt wird.

#### Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des Verfallsdatums (auf dem Behälteretikett) darf das Produkt nicht mehr verwendet werden. Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden.

#### Probenvorbereitung

Für paraffineingebettete Gewebeschnitte ist das empfohlene Fixativ 10% neutral gepuffertes Formalin.

#### Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

Dieses Reagenz wurde aus Zellkulturüberstand zubereitet. Das Reagenz ist ein biologisches Produkt und sollte mit entsprechender Vorsicht gehandhabt werden.

Dieses Reagenz enthält Natriumazid. Ein Material Sicherheits-Datenblatt ist auf Anfrage von [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) erhältlich.

Die entsprechenden nationalen und lokalen Bestimmungen und Vorschriften zur Entsorgung potentiell giftiger Komponenten sind einzuhalten.

Vor und nach der Fixierung sind die Proben sowie alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt gekommen sind, als potentiell infektiös zu behandeln und daher mit entsprechender Vorsicht zu entsorgen.<sup>1</sup> Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden, und jeglicher Kontakt der Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen. Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann. Falls die spezifizierten Inkubationszeiten oder –temperaturen nicht eingehalten werden, kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen. Jegliche Abweichungen von den angegebenen Werten müssen vom Benutzer verifiziert werden.

### **Qualitätskontrolle**

Unterschiede bei der Gewebeparbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu signifikanten Schwankungen bei den Ergebnissen führen. Daher ist es wichtig, zusätzlich zu den folgenden Verfahren regelmäßige laborinterne Kontrollen durchzuführen.

Die Kontrollen sollten mit frischen Autopsie-/Biopsie-/chirurgischen Proben vorgenommen werden, die so bald wie möglich und auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe(n) in Formalin fixiert, behandelt und in Paraffin eingebettet worden sind.

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

In jedem Färbelauf sollte für jeden Satz Testbedingungen eine positive Gewebekontrolle durchgeführt werden.

Gewebe mit schwach positiver Färbung ist für die optimale Qualitätskontrolle und den Nachweis kleiner Minderungen in der Reagenzleistung besser geeignet als ein Gewebe mit stark positiver Färbung.<sup>2</sup>

Für die positive Gewebekontrolle wird Tonsillengewebe empfohlen.

Falls das positive Kontrollgewebe keine positive Färbung nachweisen kann, sollten die mit den Testproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden.

### **Negative Gewebekontrolle**

Die negative Gewebekontrolle sollte nach der positiven Gewebekontrolle erfolgen, um die Spezifität der Zielantigenmarkierung durch den primären Antikörper zu verifizieren.

Für die negative Gewebekontrolle wird Kleinhirngewebe empfohlen.

Alternativ bietet die Vielfalt unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorliegen, häufig Stellen für eine negative Kontrolle. Jedoch sollte dies vom Benutzer verifiziert werden.

Liegt eine unspezifische Färbung vor, hat diese gewöhnlich ein diffuses Erscheinungsbild. Eine sporadische Färbung des Bindegewebes kann ebenfalls in Schnitten von übermäßig formalinfixierten Geweben beobachtet werden. Zur Bewertung der Färberegebnisse intakte Zellen verwenden. Nekrotische oder degenerierte Zellen werden oft unspezifisch gefärbt.<sup>3</sup> Falsch-positive Ergebnisse können aufgrund einer nichtimmunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten beobachtet werden. In Abhängigkeit von der Art der verwendeten Immunfärbung können solche Ergebnisse auch durch endogene Enzyme wie Pseudoperoxidase (Erythrozyten), endogene Peroxidase (Zytochrom C) oder endogenes Biotin (beispielsweise Leber, Mamma, Gehirn, Niere) hervorgerufen werden. Um eine endogene Enzymaktivität bzw. eine unspezifische Enzymbindung von einer spezifischen Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substratchromogen bzw. mit Enzymkomplexen (Avidin-Biotin, Streptavidin, markiertes Polymer) plus Substratchromogen gefärbt werden. Falls im negativen Kontrollgewebe eine spezifische Färbung auftritt, sollten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

### **Negative Reagenzkontrolle**

Zur Beurteilung einer unspezifischen Färbung und zur besseren Bewertung einer spezifischen Färbung an der Antigenstelle ist mit einem Schnitt jedes Patientenpräparates anstelle des primären Antikörpers eine unspezifische negative Reagenzkontrolle zu verwenden.

### **Patientengewebe**

Die mit NCL-L-Ki67-MM1 gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Farbeintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Bei Bedarf sollte zur Identifizierung falsch-negativer Reaktionen eine Gruppe von Antikörpern verwendet werden.

### **Erwartete Ergebnisse**

#### Normale Gewebe

Der Klon MM1 entdeckte das Antigen Ki67 im Nukleus von proliferierenden Zellen in 11/44 der evaluierten normalen Fälle, einschließlich proliferierenden Zellen in Sinus von Ileum, Blinddarm, Colon und Rektum, proliferierenden Zellen im Lymphknoten, Thymus, in den para- und suprabasalen Zellen der Zunge, Epithel- und Stromazellen-Elementen von Proendometrium, Keimzentrumelementen der Mandel, duktalem Zellelementen der Brust und vereinzelt Zellen in den supra- und parabasalen Schichten des Oesophagus. (Gesamtanzahl der evaluierten normalen Fälle = 44.)

#### Tumorgewebe

Der Klon MM1 färbte 26/70 der evaluierten Tumore, darunter Brusttumore (12/29, einschließlich 11/26 duktalem Karzinomen und 1/1 medullären Karzinomen), Lungentumore (3/4, einschließlich 2/2 nicht kleinen Epithelkarzinomen und 1/1 Plattenepithelkarzinom), Eierstocktumore (2/4, einschließlich 2/2 Zystadenokarzinomen), papilläre Schilddrüsenkarzinome (1/4), Lebertumore (1/4, einschließlich 1/1 metastatischen Karzinomen), Plattenepithelkarzinome der Zervix (2/2), Colonadenokarzinome (2/2), renale Epithelkarzinome (1/2), Plattenepithelkarzinome des Oesophagus (1/1), Plattenepithelkarzinome der Zunge (1/2), Hirntumore (0/2), Adenokarzinome des Magens (0/2), Weichgewebetumore (0/2), metastatische Tumore unbekannter Herkunft (0/2), Hodenseminome (0/2), Adenokarzinome des Rektums (0/2), Hauttumore (0/2), ein Plattenepithelkarzinom des Larynx (0/1), ein atypischer karzinoider Tumor des Thymus (0/1). (Gesamtanzahl der evaluierten Tumorfälle = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 wird für die Beurteilung der Zellproliferation bei normalem und bei neoplastischem Gewebe empfohlen.**

## Allgemeine Beschränkungen

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der eine spezialisierte Ausbildung auf den folgenden Gebieten erfordert: Auswahl der entsprechenden Reagenzien; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung des IHC-Objekträgers sowie Bewertung der Färberegebnisse.

Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor dem Färben ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Schneiden oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Abweichende Ergebnisse können aufgrund von Unterschieden bei der Fixierung und Einbettung oder intrinsischen Unregelmäßigkeiten im Gewebe selbst entstehen.<sup>4</sup>

Eine exzessive oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Bewertung von Ergebnissen gefährden.

Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Antikörper von Leica Biosystems Newcastle Ltd sind wo angezeigt für die Verwendung entweder auf gefrorenen oder in Paraffin eingebetteten Schnitten mit spezifischen Fixierungsanforderungen bestimmt. Es kann insbesondere bei Neoplasmen zu einer unerwarteten Antigenexpression kommen. Die klinische Bewertung eines gefärbten Gewebeschnitts muss eine morphologische Analyse und die Auswertung der entsprechenden Kontrollen einschließen.

## Literatur - Allgemein

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology.2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

Antikörperkonzentration.

## Ausgabedatum

05 Dezember 2018

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal líquidos de Ratón

## Ki67 Antigen

### Código De Producto: NCL-L-Ki67-MM1

#### Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-Ki67-MM1 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Ki67 Antigen. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

#### Clon

MM1

#### Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procariótica correspondiente a un fragmento de cADN de 1086 pb que contiene el motivo Ki67.

#### Especificidad

Antígeno nuclear Ki67 humano, expresado en todas las células proliferativas durante las fases G1, S, M y G2 tardías del ciclo de la célula.

#### Composición Del Reactivo

NCL-L-Ki67-MM1 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

#### Clase de Ig

IgG1

#### Concentración Total De Proteína

Total Protein

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

#### Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 84 mg/L. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

#### Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

**Recuperación de epítomos inducida por calor (HIER):** Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Dilución sugerida:** 1:200 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

**Visualización:** Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

#### Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

#### Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

#### Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.<sup>1</sup> No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

## Control De Calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

## Control Tisular Positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.<sup>2</sup>

El tejido de control positivo recomendado es amígdala palatina.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

## Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es cerebelo.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.<sup>3</sup> También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

## Control De Reactivo Negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

## Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-Ki67-MM1 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

## Resultados esperados

### Tejidos normales

El clon MM1 detectó el antígeno Ki67 en el núcleo de células proliferantes en 11 de los 44 casos normales evaluados, incluidas células proliferantes dentro de la cripta del íleo, el ciego, el colon y el recto, células proliferantes dentro del ganglio linfático, el timo, las células parabasales y suprabasales de la lengua, elementos epiteliales y celulares estromales del proendometrio, elementos con centros germinales de la tonsila, elementos celulares ductales de la mama y células aisladas en las capas suprabasal y parabasal del esófago. (Número total de casos normales evaluados = 44).

### Tejidos tumorales

El clon MM1 tiñó 26 de los 70 tumores evaluados, incluidos tumores de mama (12/29, incluidos 11/26 carcinomas ductales y 1/1 carcinomas medulares), tumores pulmonares (3/4, incluidos 2/2 carcinomas de células no pequeñas y 1/1 carcinomas de células escamosas), tumores de ovario (2/4, incluidos 2/2 cistoadenocarcinomas), carcinomas papilares tiroideos (1/4), tumores hepáticos (1/4, incluidos 1/1 carcinomas metastásicos), carcinomas de células escamosas del cuello del útero (2/2), adenocarcinomas de colon (2/2), carcinomas de células renales (1/2), carcinomas de células escamosas del esófago (1/1), carcinomas de células escamosas de la lengua (1/2), tumores cerebrales (0/2), adenocarcinomas de estómago (0/2), tumores del tejido blando (0/2), tumores metastásicos de origen desconocido (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas rectales (0/2), tumores cutáneos (0/2), un carcinoma de células escamosas de la laringe (0/1) y un tumor carcinoide atípico de timo (0/1). (Número total de casos de tumores evaluados = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 está recomendado para la evaluación de la proliferación de células en tejidos normales y neoplásicos.**



## Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.<sup>4</sup>

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

## Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweedle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## Correcciones A La Publicación Anterior

Concentración De Anticuerpo.

## Fecha De Publicación

05 de diciembre de 2018

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal Líquido de Ratinho Ki67 Antigen

## Código Do Produto: NCL-L-Ki67-MM1

### Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-Ki67-MM1 foi concebido para efectuar a identificação qualitativa da moléculas de Ki67 Antigen por microscopia óptica, em secções parafinadas. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

### Princípio Do Procedimento

As técnicas de coloração imunohistoquímica (IHC) permitem que se faça a visualização de antígenos por meio da aplicação sequencial de um anticorpo específico do antígeno (o anticorpo primário), de um anticorpo secundário ao anticorpo primário, e de um complexo enzimático com um substrato cromogénico e etapas de lavagem de permeio. A activação enzimática do cromogénio resulta num produto de reacção visível no local do antígeno. A amostra pode então ser contrastada e coberta com uma lamela. Os resultados são interpretados por meio de um microscópio óptico, e ajudam a formular o diagnóstico diferencial dos processos fisiopatológicos, os quais podem ou não estar associados a antígenos específicos.

### Clone

MM1

### Imunogénio

Proteína de fusão recombinante procariótica correspondente a um fragmento cADN de Ki67 de 1086 bp contendo motivo.

### Especificidade

Antígeno nuclear Ki67 humano expresso em todas as células de proliferação durante as fases G1, S, M e G2 posteriores do ciclo celular.

### Composição Do Reagente

NCL-L-Ki67-MM1 é o sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo de azida de sódio como produto conservante.

### Classe De Ig

IgG1

### Concentração Total De Proteína Total Protein

Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração total de proteína do lote específico.

### Concentração De Anticorpo

Maior que ou igual a 84 mg/L. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

### Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

**Recuperação de epitopos induzida pelo calor (HIER):** Queira seguir as instruções de utilização de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluição sugerida:** 1:200 durante 30 minutos a 25 °C. Esta recomendação serve apenas de orientação e os utilizadores devem determinar as suas diluições óptimas de trabalho.

**Visualização:** Queira seguir as instruções de utilização de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para informação adicional do produto ou assistência, contactar o seu distribuidor local ou escritório regional de Leica Biosystems ou, alternativamente, visitar o site web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

O desempenho deste anticorpo deve ser validado quando utilizado com outros sistemas manuais de coloração ou plataformas automáticas.

### Armazenamento E Estabilidade

Armazenar a 2–8 °C. Não congelar. Retornar à temperatura de 2–8 °C imediatamente após a utilização. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo do recipiente. As condições de armazenamento que diferirem das que se encontram especificadas acima devem ser verificadas pelo utilizador.

### Preparação Das Amostras

O fixador recomendado é formal tamponado neutro a 10% para secções de tecido envolvidas em parafina.

### Avisos E Precauções

Este reagente foi preparado a partir do sobrenadante de cultura celular. Visto ser um produto biológico, deve ser manuseado com o devido cuidado.

Este reagente contém azida sódica. Encontra-se disponível uma Ficha de Dados de Segurança do Material, mediante pedido ou através do site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consultar a legislação aplicável em relação ao descarte de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.

As amostras, antes e depois da sua fixação, bem como todos os materiais expostos às mesmas, devem ser manipulados como se tivessem a capacidade de transmitir infecções e devem ser descartados com as devidas precauções.<sup>1</sup> Não pipetar nunca os reagentes com a boca e evitar o contacto entre a pele e membranas mucosas e os reagentes e amostras. Caso os reagentes ou amostras entrem em contacto com áreas sensíveis, lavar com grandes quantidades de água. Consultar um médico.

Minimizar a contaminação microbiana dos reagentes para evitar a possibilidade do aumento da coloração não específica.

Os períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados poderão dar azo a resultados errados. Todas as alterações desse tipo devem ser validadas pelo utilizador.

## Controlo Da Qualidade

As diferenças entre os diferentes métodos e técnicas de processamento de tecidos no laboratório do utilizador podem causar uma grande variabilidade de resultados, requerendo a realização frequente de controlos internos suplementares aos procedimentos que se seguem.

Os controlos devem ser amostras de autópsia/biopsia/cirurgia frescas, fixadas em formol, processadas e envolvidas em cera parafínica logo que possível, da mesma maneira que a(s) amostra(s) do(s) doente(s).

## Controlo De Tecido Positivo

Usado para assinalar os tecidos correctamente preparados e as técnicas de coloração indicadas.

Cada conjunto de condições de testes, em cada processo de coloração, deve incluir um controlo de tecido positivo.

Os tecidos com uma coloração positiva fraca são mais indicados do que os têm uma coloração positiva forte para proporcionarem um controlo de qualidade óptimo, bem como para detectar níveis reduzidos de degradação dos reagentes.<sup>2</sup>

O tecido de controlo positivo recomendado é a amígdala.

Se o controlo de tecido positivo não demonstrar uma coloração positiva, os resultados obtidos com as amostras de testes devem ser considerados inválidos.

## Controlo De Tecido Negativo

Este deve ser examinado depois do controlo de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno objectivado pelo anticorpo primário.

O controlo de tecido negativo recomendado é o cerebelo.

Alternativamente, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria das secções de tecidos oferece muitas vezes locais de controlo negativo, mas isto deve ser verificado pelo utilizador.

A coloração não específica, caso ocorra, tem geralmente um aspecto difuso. A coloração esporádica do tecido conjuntivo pode também ter lugar em secções de tecido excessivamente fixado em formol. Devem utilizar-se células intactas para a interpretação dos resultados da coloração. As células necróticas ou degeneradas causam muitas vezes uma coloração não específica.<sup>3</sup> Podem verificar-se resultados positivos falsos devido à ligação não imunológica de proteínas ou de produtos da reacção do substrato. Esses resultados podem também ser causados por enzimas endógenas tais como a pseudoperoxidase (eritrócitos), a peroxidase endógena (citocromo C), ou a biotina endógena (ex. no fígado, mama, cérebro ou rim) dependendo do tipo de imunocoloração utilizado. Para diferenciar entre a actividade das enzimas endógenas e as ligações não específicas de enzimas de imunoreactividade específica, podem colorir-se tecidos adicionais dos doentes exclusivamente com substrato cromogénio ou com complexos de enzimas (avidina-biotina, estreptavidina, polímero marcado) e substrato-cromogénio, respectivamente. Se ocorrer a coloração específica no controlo de tecido negativo, os resultados dos testes feitos com as amostras do doente devem ser considerados inválidos.

## Controlo De Reagente Negativo

Utilizar um controlo de reagente negativo não específico em vez do anticorpo primário com uma secção de cada amostra de doente para avaliar a coloração não específica e permitir uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno.

## Tecido Do Doente

Examinar as amostras do doente coloridas com NCL-L-Ki67-MM1 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

## Resultados Previstos

### Tecidos normais

O clone MM1 detetou o antígeno Ki67 no núcleo das células em proliferação em 11 dos 44 casos normais avaliados, incluindo células em proliferação em criptas do ílio, ceco, cólon e reto, células em proliferação no gânglio linfático, timo, células parabasais e suprabasais da língua, elementos de células epiteliais e do estroma do pro-endométrio, elementos centrais germinais das amígdalas, elementos de células ductais mamárias e células ocasionais nas camadas suprabasais e parabasais do esófago. (Número total de casos normais avaliados = 44).

### Tecidos tumorais

O clone MM1 corou 26 dos 70 tumores avaliados, incluindo tumores mamários (12/29, incluindo 11/26 carcinomas ductais e 1/1 carcinoma medular), tumores pulmonares (3/4, incluindo 2/2 carcinomas de células não-pequenas e 1/1 carcinoma de células escamosas), tumores ováricos (2/4, incluindo 2/2 cistadenocarcinomas), carcinomas papilares da tiróide (1/4), tumores hepáticos (1/4, incluindo 1/1 tumor metastático), carcinomas de células escamosas do colo do útero (2/2), adenocarcinomas do cólon (2/2), carcinomas de células renais (1/2), carcinomas de células escamosas do esófago (1/1), carcinomas de células escamosas da língua (1/2), tumores cerebrais (0/2), adenocarcinomas do estômago (0/2), tumores dos tecidos moles (0/2), tumores metastáticos de origem desconhecida (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas reais (0/2), tumores de pele (0/2), um carcinoma de células escamosas da laringe (0/1), um tumor carcinóide atípico do timo (0/1). (Número total de casos de tumores avaliados = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 é recomendado para a avaliação da proliferação celular em tecidos normais e neoplásicos.**

## Limitações Gerais

A imunohistoquímica é um processo diagnóstico em múltiplas etapas que consta de: uma formação especializada na selecção dos reagentes apropriados, selecção, fixação e processamento de tecidos, preparação das lâminas de IHQ e interpretação dos resultados das colorações.

A coloração de tecidos depende do seu manuseamento e processamento antes da sua coloração. A fixação, congelação, descongelação, lavagem, secagem, aquecimento ou corte incorrectos das amostras, ou a sua contaminação com outros tecidos ou fluidos, podem produzir artefactos, retenção de anticorpos, ou resultados falso-negativos. Os resultados inconsistentes podem dever-se a variações nos métodos de fixação e envolvimento ou a irregularidades inerentes ao tecido.<sup>4</sup>

Uma contraacção excessiva ou incompleta pode comprometer a correcta interpretação dos resultados.

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

Os anticorpos da Leica Biosystems Newcastle Ltd destinam-se a serem utilizados, conforme indicado, em secções de tecido ou congeladas ou envolvidas em parafina, com requisitos de fixação específicos. Pode ocorrer uma expressão inesperada de antígeno, especialmente em neoplasmas. A interpretação clínica de qualquer secção de tecido colorido deverá incluir a análise morfológica e a avaliação de controlos apropriados.

## Bibliografia - Geral

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## Emendas Da Edição Anterior

Concentração De Anticorpo.

## Data De Emissão

05 de Dezembro de 2018

# Novocastra™ Flytande Monoklonal Musantikropp

## Ki67 Antigen

### Produktkod: NCL-L-Ki67-MM1

#### Avsedd Användning

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-Ki67-MM1 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av Ki67 Antigen-molekyler i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patalog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

#### Metodens Princip

Immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker tillåter visualisering av antigener genom sekvenstillämpning av en specifik antikropp till antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp till den primära antikroppen och ett enzymkomplex med ett kromogent substrat med inlagda tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenet resulterar i en synlig reaktionsprodukt på antigenområdet. Proverna kan då kontrastfärgas och förses med täckglas. Resultaten tolkas med ljusmikroskop och bidrar till differentialdiagnosen av patofysiologiska processer som eventuellt kan associeras till ett särskilt antigen.

#### Klon

MM1

#### Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant fusionsprotein som motsvarar et 1086 bp Ki67 motifinnehållande cDNA-fragment.

#### Specifitet

Humant Ki67 kärnantigen som uttrycks i alla ökande celler under sena G1-, S-, M- och G2-faser i cellcykeln. Korsreagerar med kärnantigen Ki67 från råtta och mus.

#### Reagensinnehåll

NCL-L-Ki67-MM1 är en flytande supernatant från vävnadsodling som innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

#### Ig-klass

IgG1

#### Total Proteinkoncentration

Total Protein

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

#### Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 84 mg/l. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

#### Rekommendationer Vid Användning

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

**Värmeinducerad epitopåtervinning (HIER):** Vänligen följ instruktionerna för användning i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Föreslagen spädning:** 1:200 i 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

**Visualisering:** Vänligen följ instruktionerna för användning i Novolink™ Polymer Detection Systems. Om ytterligare produktinformation eller stöd behövs, kontakta då din lokala distributör eller Leica Biosystems regionalkontor, alternativt in på Leica Biosystems webbplats, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Denna antikropps prestanda ska valideras när den används med andra manuella infärgningssystem eller automatiserade plattformar.

#### Förvaring Och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Frys ej. Återgå till 2–8 °C direkt efter användning. Använd ej efter det utgångsdatum som anges på flaskans etikett. Förvaringsförhållanden som skiljer sig från de ovan nämnda måste kontrolleras av användaren.

#### Preparation Av Prov

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### Varningar Och Försiktighetsåtgärder

Reagenset har förberetts från supernatanten av vävnadsodlingar. Eftersom det är en biologisk produkt bör skälig försiktighet iaktas vid hantering.

Detta reagens innehåller natriumazid. Materialsäkerhetsdatablad finns att få på begäran eller från [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

För kassering av potentiellt toxiska komponenter hänvisas till nationella eller lokala bestämmelser.

Före och efter fixering bör prover och alla material som har varit utsatta för dem hanteras som om det finns risk för att de kan överföra infektioner och kasseras med iakttagande av försiktighet. Pipettera aldrig reagenser med munnen och se till att huden och slemhinnorna inte kommer i kontakt med reagens och prover. Om reagens eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.

Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av ospecifik färgning ske.

Inkubationstider eller temperaturer som skiljer sig från dem som specificeras kan ge felaktiga resultat. Alla sådana förändringar måste kontrolleras av användaren.

## Kvalitetskontroll

Skilnader i vävnadsbehandling och tekniska metoder i användarens laboratorium kan ge stor variation i resultatet vilket kan göra det nödvändigt att genomföra regelbundna interna kontroller utöver följande metoder.

Kontroller bör vara färska obduktions-/biopsi-/kirurgi prover som snarast möjligt formalinfixeras, bearbetas och paraffinbäddas på samma sätt som patientprover.

## Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

En positiv vävnadskontroll bör ingå i varje uppsättning av testförhållanden vid varje färgningskörning.

En vävnad med svag positiv färgning är mer lämplig för optimal kvalitetskontroll och för att upptäcka låga nivåer av reagensdegradering än en vävnad med stark positiv färgning.<sup>2</sup>

Tonsill rekommenderas som positiv kontrollvävnad.

Om den positiva vävnadskontrollen inte uppvisar positiv färgning bör resultat med testproverna anses vara ogiltiga.

## Negativ Vävnadskontroll

Bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att fastställa specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen.

Lillhjärnan rekommenderades som negativ kontrollvävnad.

Alternativt ger ofta en mängd olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt negativa kontrollområden men detta bör kontrolleras av användaren.

Ospecifik färgning, om det förekommer, har ofta ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från överflödigt formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgar ofta ospecifikt.<sup>3</sup> Falskt positiva resultat kan uppstå p.g.a. icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av endogena enzymer som pseudoperoxidas (erythrocyter), endogent peroxid (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på typ av immunfärgning som används. För att skilja endogen enzymaktivitet eller ospecifik enzymbindning från specifik immunreaktivitet kan ytterligare patientvävnader färgas exklusivt med respektive substratkromogen eller enzymkomplex (avidin-biotin, streptavidin, märkt polymer) och substrat-kromogen. Om specifik färgning sker i den negativa vävnadskontrollen bör resultat med patientprover anses vara ogiltiga.

## Negativ Reagenskontroll

Använd en ospecifik negativ reagenskontroll istället för den primära antikroppen med ett snitt från varje patientprov för att utvärdera ospecifik färgning och tillåta bättre tolkning av specifik färgning på antigenområdet.

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-Ki67-MM1 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrunds färgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en antikroppspanel för att identifiera falskt negativa reaktioner.

## Förväntade Resultat

### Normal vävnad

Klonen MM1 detekterade Ki67-antigenen i kärna från framväxande celler i 11/44 utvärderade normalfall, inklusive celler som förökar sig i kryptor från ileum, blindtarm, kolon och rektum, framväxande celler från lymfkörtel, thymus, para- och suprabasala celler från tunga, epiteliala celler och stromacellselement från pro-endometrium, groddcentrumselement från tonsill, dukkala cellelement från bröst och enstaka celler i supra- och parabasala lager från matstrupe. (Totalt antal normala fall som utvärderats = 44).

### Tumörvävnader

Klonen MM1 färgade 26/70 utvärderade tumörer, däribland brösttumörer (12/29, inklusive 11/26 dukkala karzinom och 1/1 medullära karzinom), lungtumörer (3/4, inklusive 2/2 icke småcelliga karzinom och 1/1 skivepitelskarzinom), ovariala tumörer (2/4, inklusive 2/2 cystadenokarcinom), papillära sköldkörtelkarzinom (1/4), levertumörer (1/4, inklusive 1/1 metastatiska karzinom), skivepitelskarcinom från livmoderhals (2 / 2), kolon-adenokarcinom (2/2), njurellskarcinom (1/2), skivepitelskarcinom från matstrupe (1/1), skivepitelskarcinom från tunga (1/2), hjärntumörer (0 / 2), adenokarcinom från magsäck (0/2), tumörer från mjuk vävnad (0/2), metastatiska tumörer av okänt ursprung (0/2), testikulära seminom (0/2), adenokarcinom från rektum (0/2), hudtumörer (0/2), ett skivepitelskarcinom från struphuvud (0/1), en atypisk karcinoid tumör från thymus (0/1). (Totalt antal fall av tumörer som utvärderats = 70).

### NCL-L-Ki67-MM1 rekommenderas för bedömning av cellframväxt i normala och neoplastiska vävnader.

## Allmänna Begränsningar

Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialiserad utbildning i urvalet av lämpliga reagens, val av vävnad, fixering och bearbetning, förberedelse av IHC-objektglaset samt tolkning av färgningsresultaten.

Vävnadsfärgning påverkas av hantering och bearbetning av vävnaden före färgningen. Felaktig fixering, nedfrysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering av andra vävnader eller vätskor kan framställa artefakter, infångande av antikroppar eller falskt negativa resultat. Motsägelsefulla resultat kan bero på variationer av fixerings- och inbäddningsmetoder eller på naturliga oregelbundenheter i vävnaden.<sup>4</sup>

Överflödlig eller ofullständig kontrastfärgning kan försvåra en korrekt tolkning av resultatet.

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

Antikroppar från Leica Biosystems Newcastle Ltd är till för användning så som anges på antingen frysta eller paraffinbäddade snitt med specifika fixeringskrav. Övåntat antigenuttryck kan ske, speciellt i neoplasmer. Morfologisk analys och utvärdering av lämpliga kontroller måste ingå i den kliniska tolkningen av alla färgade vävnadssnitt.

## Bibliografi - Allmän

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Rättelser Av Tidigare Utgivning

Antikropps-koncentration.

## Utgivningsdatum

05 december 2018

# Novocastra™ Υγρό Μονοκλωνικό Αντίσωμα Ποντικού Ki67 Antigen Κωδικός είδους: NCL-L-Ki67-MM1

## Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το NCL-L-Ki67-MM1 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρωπίνης Μόρια Ki67 Antigen σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

## Αρχή Της Διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των ανιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμόγONO υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του ανιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε αντίχρωση και να καλυφθεί με καλυπτρίδα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με χρήση μικροσκοπίου φωτός και βοηθούν στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

## Κλώνος

MM1

## Ανοσογόνο

Προκαρμωτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη σύντηξης, η οποία αντιστοιχεί σε θραύσμα συμπληρωματικού DNA που περιέχει το μοτίβο Ki67 1086 bp.

## Ειδικότητα

Ανθρώπινο πυρηνικό αντιγόνο Ki67 εκφρασμένο σε όλα τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα κατά τη διάρκεια των ώσιμων φάσεων G1, S, M και G2 του κυτταρικού κύκλου.

## Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-Ki67-MM1 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

## Τάξη Ig

IgG1

## Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

Για την ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

## Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 84 mg/L. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

## Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε παρασκευάσματα παραφίνης.

**Ανάκτηση Επίτοπου με Θερμική Επαγωγή (HIER):** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες για τη χρήση στο Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Προτεινόμενη διάλυση:** 1:200 επί 30 λεπτά σε 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους διαλύσεις εργασίας.

**Απεικόνιση:** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης στο Novolink™ Polymer Detection Systems. Για περισσότερες πληροφορίες για το προϊόν ή για υποστήριξη, επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems ή εναλλακτικά επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Η απόδοση του συγκεκριμένου αντισώματος θα πρέπει να επικυρωθεί όταν χρησιμοποιηθεί μαζί με άλλα μη αυτόματα συστήματα χρώσης ή αυτοματοποιημένες πλατφόρμες.

## Φύλαξη Και Σταθερότητα

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Μην καταψύχετε. Επαναφέρετε στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από το χρήστη.

## Παρασκευή Δείγματος

Το συνιστώμενο μονιμοποιητικό είναι ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης 10% για τομές ιστού εγκλεισμένες σε παραφίνη.

## Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

Το αντιδραστήριο αυτό έχει παρασκευαστεί από το υπερκείμενο κυτταροκαλλιέργειας. Επειδή είναι βιολογικό προϊόν, θα πρέπει να δίνεται εύλογη προσοχή κατά το χειρισμό του.

Αυτό το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου. Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού διατίθεται κατόπιν αιτήματος ή από τη διεύθυνση [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.

Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετάδοσης λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις. Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή του γιατρού.



Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης. Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοιες μεταβολές πρέπει να επικυρώνονται από το χρήστη.

## Ποιοτικός Έλεγχος

Τυχόν διαφορές στην επεξεργασία των ιστών και τις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική μεταβλητότητα στα αποτελέσματα, καθιστώντας αναγκαία την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων επιπλέον των ακόλουθων διαδικασιών.

Οι μάρτυρες θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα νεκροψιάς/βιοψιάς/χειρουργικά δείγματα, τα οποία είναι μονιμοποιημένα σε φορμόλη, επεξεργασμένα και εγκλεισμένα σε κηρό παραφίνης, το συντομότερο δυνατό με τον ίδιο τρόπο με το(α) δείγμα(τα) του ασθενούς.

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

Χρησιμοποιείται για να υποδεικνύει σωστά παρασκευασμένους ιστούς και σωστές τεχνικές χρώσης.

Θα πρέπει να περιλαμβάνεται ένας θετικός μάρτυρας ιστού για κάθε σύνολο συνθηκών εξέτασης σε κάθε εκτέλεση χρώσης.

Ένας ιστός με ασθενή θετική χρώση είναι πιο κατάλληλος από έναν ιστό με ισχυρή θετική χρώση για βέλτιστο έλεγχο ποιότητας και για την ανίχνευση τοπικών μικρών επιπέδων τυχόν αποδόμησης των αντιδραστηρίων.<sup>2</sup>

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι η αμυγδαλή.

Εάν ο θετικός μάρτυρας ιστού δεν παρουσιάζει θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα της εξέτασης θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επίσημης της ανιχνύουσα-στόχου από το πρωτοπαγές αντίσωμα.

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι η παρεγκεφαλίδα.

Εναλλακτικά, η ποικιλία διαφόρων κυτταρικών τύπων που υπάρχουν στις περισσότερες τομές ιστών παρέχει συχνά θέσεις αρνητικού μάρτυρα, αλλά αυτό πρέπει να επαληθεύεται από το χρήστη.

Μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Ενδέχεται επίσης να παρατηρηθεί αποραδική χρώση του συνδετικού ιστού σε τομές από ιστούς που έχουν μονιμοποιηθεί με υπερβολική ποσότητα φορμόλης. Χρησιμοποιείστε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης. Νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα παρουσιάζουν συχνά μη ειδική χρώση.<sup>3</sup> Ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης των πρωτεϊνών ή των προϊόντων αντίδρασης του υποστρώματος. Ενδέχεται επίσης να προκληθούν από ενδογενή ένζυμα, όπως η ψευδουπεροξειδάση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπεροξειδάση (κυτόχρωμα C) ή η ενδογενής βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο αναστοχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμευσης των ενζύμων από ειδική αναστοχρωστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστοί ασθενών με χρωμογόνο υποστρώμα ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα. Εάν παρουσιαστεί ειδική χρώση στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενούς θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστηρίου

Χρησιμοποιείτε έναν μη ειδικό αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου αντί του πρωτοπαγούς αντισώματος με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς για την αξιολόγηση μη ειδικής χρώσης και για να επιτρέπεται καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του ανιχνύου.

## Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-Ki67-MM1. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστηρίου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε αναστοχαστική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το ανιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το ανιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί ιστοί

Ο κλώνος MM1 ανίχνευσε το ανιγόνο Ki67 στον πυρήνα των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων σε 11/44 φυσιολογικά δείγματα προς αξιολόγηση, στα οποία περιλαμβάνονταν πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα εντός των κρυπτιών του ειλεού, του πυλφού, του κόλου και του ορθού, πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα εντός του λεμφογαγγλίου, του θύμου αδένος, παραβασικά και ακανθωτά κύτταρα της γλώσσας, επιθηλιακά και στρωματικά κυτταρικά στοιχεία του προμητρίου και του ενδομητρίου, στοιχεία στα βλαστικά κέντρα της αμυγδαλής, στοιχεία των πορογώνων κυττάρων του μαστού και περιστασιακά κύτταρα στις ακανθώδεις και τις παραβασικές στοίβαδες του οισοφάγου (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών δειγμάτων που αξιολογήθηκαν = 44).

### Καρκινικοί ιστοί

Ο κλώνος MM1 χρωμάτισε 26/70 όγκους προς αξιολόγηση, στους οποίους περιλαμβάνονταν όγκοι του μαστού (12/29, μεταξύ των οποίων 11/26 πορογενή καρκινώματα και 1/1 μυελοειδές καρκίνωμα), όγκοι του πνεύμονα (3/4, μεταξύ των οποίων 2/2 μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα και 1/1 καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων), όγκοι των ωοθηκών (2/4, μεταξύ των οποίων 2/2 κυσταδεοκαρκινώματα), θηλοειδή καρκινώματα του θυρεοειδούς (1/4), όγκοι του ήπατος (1/4, μεταξύ των οποίων 1/1 μεταστατικά καρκινώματα), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του τραχήλου (2/2), αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου (2/2), νεφροκυτταρικό καρκίνωμα (1/2), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του οισοφάγου (1/1), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων της γλώσσας (1/2), όγκοι του εγκεφάλου (0/2), αδενοκαρκινώματα του στομάχου (0/2), όγκοι μαλακών μοριών (0/2), μεταστατικοί όγκοι ανώστου προέλευσης (0/2), σημινώματα των όρχων (0/2), αδενοκαρκινώματα του ορθού (0/2), όγκοι του δέρματος (0/2), ένα καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων του λάρυγγα (0/1), ένας άτυπος καρκινοειδής όγκος του θύμου αδένος (0/1). (Συνολικός αριθμός όγκων που αξιολογήθηκαν = 70).

### Το NCL-L-Ki67-MM1 συνιστάται για την εκτίμηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς.

## Γενικοί Περιορισμοί

Η αναστοχαστικότητα είναι μια διαγνωστική διεργασία πολλαπλών βημάτων, η οποία αποτελείται από ειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, επιλογή ιστού, μονιμοποίηση και επεξεργασία, προετοιμασία της πλάκας IHC και ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης.

Η χρώση του ιστού εξαρτάται από το χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Τυχόν εσφαλμένη μονιμοποίηση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύση, στέγνωμα, θέρμανση, τομή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά ενδέχεται να παράγει μορφώματα, παγίδευση αντισώματος ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τυχόν ασυνεπή αποτελέσματα ενδέχεται να οφείλονται σε παραλλαγές των μεθόδων μονιμοποίησης και εγκλεισμού ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.<sup>4</sup>

Τυχόν υπερβολική ή ατελής αντίχρωση ενδέχεται να διακυβεύσει τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Τα αντιώματα που παρέχονται από την Leica Biosystems Newcastle Ltd προορίζονται για χρήση, όπως υποδεικνύεται, είτε σε κατεψυγμένες είτε σε εγκλεισμένες σε παραφίνη τομές, με ειδικές απαιτήσεις μονιμοποίησης. Ενδέχεται να παρουσιαστεί μη αναμενόμενη έκφραση αντιγόνου, ειδικά σε νεοπλασμάτα. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρωματισμένης τομής ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων μαρτύρων.

## Βιβλιογραφία - Γενικά

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Συγκέντρωση Αντισώματος.

## Ημερομηνία Έκδοσης

05 Δεκεμβρίου 2018

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof

## Ki67 Antigen

### Produktkode: NCL-L-Ki67-MM1

#### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-Ki67-MM1 er beregnet til kvalitativ identifikation af Ki67 Antigen-molekyler i paraffinsnit ved lysmikroskopi. Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

#### Procedureprincip

Immunhistokemiske (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel tilsætning af et specifikt antistof mod antigenet (primært antistof), et sekundært antistof mod det primære antistof og et enzym kompleksbundet til et kromogent substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Prøven kan derefter kontrastfarves og dækkes med et dækglas. Resultaterne fortolkes ved anvendelse af et lysmikroskop og medvirker til differential diagnose af patofysiologiske processer, som muligvis kan være associeret med et bestemt antigen.

#### Klon

MM1

#### Immunogen

Prokaryot rekombinant fusionsprotein svarende til et 1086 bp stort Ki67-motiv indeholdt i et cDNA-fragment.

#### Specifitet

Humant Ki67-kerneantigen udtrykt i alle prolifererende celler i celleyklusens G1-, S-, M- og G2-fase.

#### Reagenssammensætning

NCL-L-Ki67-MM1 er en flydende vævskultursupernatant indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totalproteinkoncentration

Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

#### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 84 mg/l. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

#### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Varmeinduceret epitopgenfinding (HIER):** Følg venligst vejledningen i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslået fortynding:** 1:200 ved 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjer er vejledende, og brugeren bør selv bestemme egne optimale brugsopløsninger.

**Visualisering:** Følg venligst vejledningen i Novolink™ Polymer Detection Systems. Yderligere produktinformation og support fås ved henvendelse til lokal forhandler eller Leica-Biosystems regionskontor - samt på vores hjemmeside: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)  
Dette antistofs funktion bør valideres, når det anvendes med andre manuelle farvningssystemer eller automatiserede platforme.

#### Opbevaring Og Holdbarhed

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Sættes tilbage til 2–8 °C umiddelbart efter brug. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen angivet på hætteflaskens etikette. Andre opbevaringsbetingelser end de ovenfor angivne skal verificeres af brugeren.

#### Prøveklargøring

Det anbefalede fiksativ er 10% neutralbufferjusteret formalin til paraffinindstøbte vævssnit.

#### Advarsler Og Forholdsregler

Dette reagens er fremstillet ud fra supernatanten af en cellekultur. Da det er et biologisk produkt, skal der tages fornuftige sikkerhedsforanstaltninger ved dets håndtering.

Denne reagens indeholder natriumazid. Et datablad for materialesikkerhed kan fås efter anmodning eller er tilgængeligt på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Konsulter landsdækkende og lokale love og regler vedrørende bortskaffelse af alle potentielt toksiske komponenter.

Prøver skal før og efter fiksering, lige som alle materialer eksponeret mod prøverne, håndteres som potentielt smittefarlige og bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler<sup>1</sup>. Pipetter aldrig reagenser med munden og undgå, at reagenser og prøver kommer i kontakt med huden eller slimhinder. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles efter med rigelige mængder vand. Søg læge.

Minimer mikrobiel kontaminering af reagenserne, da der ellers kan forekomme øget uspecifik farvning.

Inkubationstider eller -temperaturer andre end de specificerede kan give fejlagtige resultater. Alle sådanne ændringer skal valideres af brugeren.

## Kvalitetskontrol

Forskelle i behandlingen af væv og forskelle i tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan frembringe betydeligt varierende resultater og nødvendiggøre regelmæssig udførelse af kontroller på stedet ud over nedenstående procedurer.

Kontrollerne skal være friske autopsier/biopsier/kirurgiske prøver fikseret i formalin og behandlet og indstøbt i paraffin så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøver.

## Positiv Vævskontrol

Anvendes til påvisning af, at vævet er fremstillet korrekt, og at der er anvendt korrekte farvningssteknikker.

Der bør inkluderes en positiv vævskontrol for hvert sæt testbetingelser i hver farvekørsel.

Svagt positivt farvet væv er mere egnet end kraftigt positivt farvet væv til optimal kvalitetskontrol og påvisning af små niveauer af reagensnedbrydning.<sup>2</sup>

Anbefalet positivt kontrolvæv er tonsil.

Hvis den positive vævskontrol ikke udviser positiv farvning, skal resultater af testprøverne kasseres.

## Negativ Vævskontrol

Skal undersøges efter den positive vævskontrol for at sikre, at det primære antistof mærker målantigenet specifikt.

Det anbefalede negative kontrolvæv er lillehjerne.

Alternativt frembyder de mange forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, ofte negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren.

Uspecifik farvning har, hvis til stede, ofte et diffus udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan ligeledes observeres i vævssnit af væv, der er fikseret for kraftigt i formalin. Anvend intakte celler til fortolkning af farvningsresultaterne. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte mere uspecifikt.<sup>3</sup> Der kan eventuelt ses falske positive resultater, der skyldes non-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. Dette kan ligeledes skyldes endogene enzymer, såsom pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroxidase (cytochrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarve. For at differentiere mellem endogen enzymaktivitet eller uspecifik enzymbinding og specifik immunreaktivitet kan yderligere patientvæv eventuelt farves udelukkende med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, mærket polymer) og substratkromogen. Hvis der optræder specifik farvning i den negative vævskontrol, skal resultaterne af patientprøverne kasseres.

## Negativ Reagenskontrol

Anvend en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof på et vævssnit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og muligvis bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet.

## Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-Ki67-MM1 sidst. Intensiteten af positiv farvning bør vurderes i sammenhæng med eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist. Ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Om nødvendigt anvendes et panel af antistoffer til identifikation af falske negative reaktioner.

## Forventede Resultater

### Normalt væv

Klon MM1 påviste Ki67-antigenet i cellekernen af prolifererende celler i 11/44 evaluerede normale tilfælde, inklusive prolifererende celler i fordøjninger i ileum, coecum, tyktarm og rektum, prolifererende celler i lymfeknuderne, thymus, para- og suprabasale celler på tungen, epiteliale og stromale celler i pro-endometrium, kimcentrum-celler i tonsiller, duktalet celler i brystet og okkasionelle celler i øsofagus' supra- og parabasale lag. (Samlet antal evaluerede normale tilfælde = 44).

### Tumør væv

Klon MM1 farvede 26/70 evaluerede tumorer, inklusive brysttumorer (12/29, inklusive 11/26 duktalet karcinomer og 1/1 medullært karcinom), lungetumorer (3/4, inklusive 2/2 ikke-små cellekarcinomer og 1/1 pladecellekarcinom), ovariale tumorer (2/4, inklusive 2/2 cystadenokarcinomer), papillære thyroideakarcinomer (1/4), levertumorer (1/4, inklusive 1/1 metastatiske karcinomer), pladecellekarcinomer i cervix (2/2), tyktarmsadenokarcinomer (2/2), nyrecellekarcinomer (1/2), pladecellekarcinomer i øsofagus (1/1), pladecellekarcinomer på tungen (1/2), hjernetumorer (0/2), maveadenokarcinomer (0/2), blodvævstumorer (0/2), metastatiske tumorer af ukendt oprindelse (0/2), testikelseminomer (0/2), adenokarcinomer i rektum (0/2), hudtumorer (0/2), et pladecellekarcinom i larynx (0/1), en atypisk karcinoid tumor i thymus (0/1). (Samlet antal evaluerede tumortilfælde = 70).

### NCL-L-Ki67-MM1 anbefales til vurdering af celleproliferation i normale og neoplastiske væv.

## Generelle Begrebsninger

Immunhistokemi er en diagnostisk proces bestående af mange trin, der omfatter specialiseret uddannelse i valg af passende reagenser, vævsselektion, -fiksering og -behandling samt fremstilling af IHC-objektglas og fortolkning af farvningsresultaterne.

Vævsfarvning er afhængig af håndteringen og behandlingen af vævet inden farvning. Forkert fiksering, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andet væv eller andre væsker kan frembringe artefakter, indfangning af antistof eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indstøbningsmetoder eller irregulariteter indeholdt i vævet.<sup>4</sup>

For kraftigt eller ukomplet kontrastfarvning kan gøre korrekt fortolkning af resultaterne vanskelig.

Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er som angivet beregnet til anvendelse på enten frosne eller paraffinindstøbte vævssnit med specifikke krav til fiksering. Der kan forekomme uventet antigenekspresion, navnlig i neoplasmer. Den kliniske fortolkning af alle farvede vævssnit skal indbefatte morfologisk analyse og evaluering af passende kontroller.

## Bibliografi - Generelt

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Rettelser Til Tidligere Udgave

Antistofkoncentration.

## Udgivelsesdato

05 december 2018

# Novocastra™ Vloeistof Muis Monoklonaal Antilichaam Ki67 Antigen

**Productcode: NCL-L-Ki67-MM1**

## Beoogd Gebruik

*Voor gebruik bij in-vitro-diagnostiek.*

NCL-L-Ki67-MM1 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie met behulp van lichtmicroscopie van Ki67 antigeenmoleculen in paraffine secties. De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

## Beingsel van de Procedure

Immunohistochemische (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam naar het antigen (primaire antilichaam), het secundaire antilichaam naar het primaire antilichaam en een enzymcomplex met een chromogeen substraat met ingevoegde wasstappen. De enzymatische activering van de chromogeenresultaten in een zichtbaar reactieproduct op de antigene plaats. De monsters kunnen dan tegengekleurd en afgedekt zijn. De resultaten worden geïnterpreteerd met een lichtmicroscop en hulpmiddelen in de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die wel of niet met een specifiek antigen geassocieerd kunnen worden.

## Kloon

MM1

## Immunogeen

Prokaryotische recombinant fusieproteïne dat overeenkomt met een 1086 bp Ki67 motief bevattende cDNA fragment.

## Specificiteit

Menselijke Ki67 nucleaire antigeen, uitgedrukt in alle delende cellen tijdens de late G1, S, M en G2-fase van de celcyclus.

## Reagentiasamenstelling

NCL-L-Ki67-MM1 is een supernatant van de vloeibare weefselweek die natriumazide bevat als conserveringsmiddel.

## Ig-klasse

IgG1

## Totale Proteïneconcentratie

Total Protein

Raadpleeg het etiket op de flacon voor de specifieke totale proteïneconcentratie.

## Antilichaamconcentratie

Groter of gelijk aan 84 mg/L. Raadpleeg het etiket op de flacon voor de specifieke Ig-concentratie.

## Aanbevelingen over het Gebruik

Immunochemisch op paraffine coupes.

**Warme-geïnduceerd epitooferstel (HIER):** Volg de instructies voor gebruik in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Aangeraden verdunning:** 1:200 voor 30 minuten bij 25 °C. Dit wordt gezien als een richtlijn en gebruikers dienen hun eigen optimale werkverdunningen te bepalen.

**Visualisatie:** Volg a.u.b. de gebruiksinstructies in de Novolink™ Polymer Detection Systems. Voor meer productinformatie of ondersteuning dient u contact op te nemen uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of de website van Leica Biosystems te bezoeken, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

De prestatie van dit antilichaam dient gevalideerd te worden als het wordt gebruikt met andere handmatige kleuringssystemen of automatische platformen.

## Opslag en Stabiliteit

Opslaan bij temperaturen van 2–8 °C. Niet bevroren. Laat het systeem direct na gebruik terugkeren naar een temperatuur van 2–8 °C. Gebruik het product niet meer na de expiratedatum die op de flacon staat. Opslagcondities andere dan degene die hierboven gespecificeerd zijn, dienen door de gebruiker geverifieerd te.

## Vorbereiding van Monsters

De aanbevolen fixeerstof is 10% neutraal gebufferde formaline voor paraffine ingebedde weefselcoupes.

## Waarschuwingen en Voorzorgsmaatregelen

Deze reagens is voorbereid van het supernatant van de celweek. Aangezien het biologisch product is, dient u bij het gebruik ervan voorzichtig te werk te gaan.

Deze reagens bevat natriumazide. Een materiaalveiligheidsblad is op verzoek verkrijgbaar bij [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Raadpleeg de richtlijnen van de lokale of nationale overheid voor het afhandelen van potentieel giftige componenten.

Monsters moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgedankt. Dit geldt tevens voor alle materialen die aan de monsters zijn blootgesteld.<sup>1</sup>

Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipetteerd. Daarnaast moet contact tussen de huid en het slijmvlies met reagentia en monsters worden vermeden.

Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, moet u deze gebieden wassen met een ruime hoeveelheid water. Neem contact op met een arts.

Minimaliseer de kans van microbacteriële contaminatie van reagentia. Als u dit niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.

Incubatietijden of temperaturen die afwijken van degenen die gespecificeerd zijn, kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Iedere dergelijke verandering moet door de gebruiker gevalideerd worden.

## Kwaliteitscontrole

Verschillen in het verwerken van weefsel en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen zorgen voor een aanzienlijke variabiliteit van de resultaten. Dit vereist een regulier gebruik van bedrijfsgeïmplementeerde controles naast de volgende procedures.

De controles moeten verse autopsie-, biopsie-, of chirurgische monsters omvatten, en zo snel mogelijk formaline gefixeerd en in paraffinewax ingebed worden, op dezelfde manier als de patiëntmonster(s).

## Positieve Weefselcontrole

Wordt gebruikt om correct voorbereide weefsels en goede kleuringstechnieken aan te duiden.

Er dient een positieve weefselcontrole opgenomen te worden voor iedere set testcondities in iedere kleuringrun.

Voor een optimale kwaliteitscontrole en voor het detecteren van geringe niveaus van reagensdegradatie, is weefsel met zwakke positieve kleuring beter geschikt dan weefsel met sterke positieve kleuring.<sup>2</sup>

Aanbevolen positieve weefselcontrole is tonsillen.

Als de positieve weefselcontrole geen positieve kleuring vertoont, moeten de resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

## Negatieve Weefselcontrole

Dient onderzocht te worden na de positieve weefselcontrole om de specificiteit te verifiëren van de labeling van het doelantigen door het primaire antilichaam.

Aanbevolen negatieve weefselcontrole is kleine hersenen.

Daarnaast leveren de verscheidenheid aan celtypen, die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, regelmatig negatieve controlelocaties op, maar dit dient door de gebruiker geverifieerd te worden. Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, heeft meestal een diffuus uiterlijk.

Daarnaast kan in coupes sporadische kleuring van bindweefsel worden geobserveerd. Dit treedt op als gevolg van overdadig fixeren van weefsel met formaline. Maak voor de interpretatie van kleuringsresultaten gebruik van intacte cellen. Necrotische of gedegenereerde cellen kunnen vaak een niet-specifieke kleuring vertonen.<sup>3</sup>

Er kan sprake zijn van fout-positieven als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Zij kunnen ook veroorzaakt worden door endogene enzymen zoals pseudoperoxidase (erythrocyten), endogene peroxidase (cytochroom C), of endogene biotine (bijv. lever, borst, hersenen, nieren), afhankelijk van het type immunokleuring dat gebruikt wordt.

Om endogene enzymen of niet-specifieke binding van enzymen van specifieke immunoreactiviteit te differentiëren, kan het zijn dat extra patiëntweefsels exclusief gekleurd wordt met substraat chromogeen of enzymcomplexen (avidine-biotine, streptavidine, gelabeld polymeer) en respectievelijk substraat-chromogeen. Indien specifieke kleuring binnen het interne negatieve controleweefsel optreedt, moeten de resultaten die met de patiëntmonsters zijn verkregen als ongeldig worden beschouwd.

## Negatieve Reagenscontrole

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een coupe van ieder patiëntmonster, om een niet-specifieke kleuring te evalueren en een betere interpretatie te krijgen van de specifieke kleuring op de antigenen plaatsen.

## Patiëntweefsel

Onderzoek de gekleurde patiëntmonsters met NCL-L-Ki67-MM1. De positieve kleuringsintensiteit moet worden geëvalueerd binnen de context van iedere niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Net zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent dus niet dat het antigeen afwezig was in de geanalyseerde cellen/het geanalyseerde weefsel. Gebruik een panel van antilichamen om de verkeerd-negatieve reacties te identificeren.

## Verwachte Resultaten

### Normale weefsels

Kloon MM1 detecteerde het Ki67-antigeen in de kern van vermenigvuldigende cellen in 11/44 geëvalueerde normale gevallen, met inbegrip van vermenigvuldigende cellen in crypten (instulpingen) van het ileum, de blinde darm, de dikke darm en de endeldarm, vermenigvuldigende cellen in lymfeklieren, thymus, parabasale en suprabasale cellen van de tong, epitheeliale en stromale elementen van het pro-endometrium, kiemcentrumelementen van de amandelen, ductale elementen van de borst en incidentele cellen in suprabasale en parabasale lagen van de slokdarm. (Totaal aantal geëvalueerde normale gevallen = 44).

### Abnormale weefsels

Kloon MM1 kleurde 26/70 geëvalueerde tumoren, waaronder borsttumoren (12/29, waarvan 11/26 ductale carcinomen en 1/1 medullair carcinoom), longtumoren (3/4, waarvan 2/2 niet-kleincellige carcinomen en 1/1 squameus celcarcinoom), ovariale tumoren (2/4, waarvan 2/2 cystadenocarcinomen), papillaire schildklieradenocarcinomen (1/4), levertumoren (1/4, waarvan 1/1 metastatische carcinomen), squameuze celcarcinomen van de baarmoederhals (2/2), adenocarcinomen van de dikke darm (2/2), niercelcarcinomen (1/2), squameuze celcarcinomen van de slokdarm (1/1), squameuze celcarcinomen van de tong (1/2), hersentumoren (0/2), adenocarcinomen van de maag (0/2), tumoren van de weke delen (0/2), metastatische tumoren van onbekende oorsprong (0/2), testiculaire seminomen (0/2), adenocarcinomen van het rectum (0/2), huidtumoren (0/2), een squameus celcarcinoom van het strottenhoofd (0/1), een atypische carcinoïde tumor van de thymus (0/1). (Totaal aantal geëvalueerde tumorgevallen = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 wordt aanbevolen voor de evaluatie van celvermenigvuldiging in normale en neoplastische weefsels.**

## Algemene Beperkingen

Immunohistochemie is een diagnoseproces van meerdere stappen dat uit een gespecialiseerde training bestaat in het selecteren van de desbetreffende reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van de IHC-objectglaasjes; en de interpretatie van de kleuringsresultaten. Weefselkleuring is afhankelijk van het gebruik en de verwerking van het weefsel vóór het aanbrengen van de kleuring. Een onjuiste manier van fixeren, invriezen, ontdooven, wassen, drogen, verwarmen en opdelen of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kunnen leiden tot artefacten, het vastzitten van antilichamen of fout-negatieven. Inconsistente resultaten kunnen het gevolg zijn van variaties in de methoden die voor het fixeren en inbedden worden gebruikt of van inherente onregelmatigheden binnen het weefsel.<sup>4</sup>

Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan een correcte interpretatie van de resultaten in te weg zitten.

De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

Antilichamen van Leica Biosystems Newcastle Ltd zijn bedoeld voor gebruik, zoals aangegeven, op bevroren of paraffine ingebedde coupes met specifieke fixatie-eisen. Er kan een onverwachte antigenexpressie optreden, met name in neoplasma's. De klinische interpretatie van ieder gekleurde weefselcoupe moet morfologische analyses bevatten en de evaluatie van de juiste controles.

## Algemene Literatuurlijst

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Aanpassingen ten opzichte van Vorige Editie

Antilichaamconcentratie.

## Publicatiedatum

05 december 2018



# Novocastra™ Flytende Monoklonalt Antistoff Fra Mus Ki67 Antigen

## Produktkode: NCL-L-Ki67-MM1

### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-Ki67-MM1 er beregnet for kvalitativ identifisering av lys mikroskopi av Ki67 antigenet molekyler i parafin seksjoner. Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

### Prosedyreprinsipp

Immunhistokjemiske (IHC) fargingsteknikker gjør det mulig å se antigener via en sekvensiell tilsetning av et bestemt antistoff mot antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff mot det primære antistoffet og et enzymkompleks med et kromogent substrat med innskutte vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet gir et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter kontrastfarges og dekkes med et dekkglass. Resultatene fortolkes ved hjelp av et lysmikroskop og medvirker til differensialdiagnose av patofysiologiske prosesser som muligens kan være assosiert med et bestemt antigen.

### Klon

MM1

### Immunogen

Prokaryot rekombinant fusjon proteiner som tilsvarer en 1086 BP Ki67 motiv-holdig cDNA fragmentet.

### Spesifisitet

Menneskelig Ki67 kjernefysiske antigenet uttrykt i alle prolifererende celler under sen G1, S, M og G2 faser av cellyklus.

### Reagenssammensetning

NCL-L-Ki67-MM1 er en flytende vevskultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

### Ig-klasse

IgG1

### Totalproteinkonsentrasjon

Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk totalproteinkonsentrasjon.

### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller tilsvarende 84 mg/l. Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk Ig-konsentrasjon.

### Anbefalinger for Bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

**Varmeindusert epitoppjevning (HIER):** Følg instruksjonene for bruk i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslått fortykning:** 1:200 i 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjene er veiledende, og brukeren bør selv bestemme egne optimale bruksfortyninger.

**Visualisering:** Følg bruksanvisningen for Novolink™ Polymer Detection Systems. Ønsker du ytterligere produktinformasjon eller -støtte, kan du ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller på nettsidene til Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Ytelsen til dette antistoffet bør valideres ved bruk av andre manuelle fargingssystemer eller automatiske systemer.

### Oppbevaring og Stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på produktetiketten. Andre oppbevaringsbetingelser må valideres av brukeren.

### Klargjøring av Prøver

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralbufret formalin for parafinlagrede vevsnett.

### Advarsler og Forholdsregler

Denne reagensen er laget av supernatanten fra en cellekultur. Dette er et biologisk produkt som må behandles deretter.

Denne reagensen inneholder natriumazid. Dataark om materialsikkerhet (MSDS) er tilgjengelig på forespørsel eller kan lastes ned fra [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Følg nasjonale og lokale forskrifter for avhending av komponenter som kan være giftige.

Prøver (før og etter fiksering) og alt materiale som eksponeres for dem, skal behandles som potensielt smittefarlig og kasseres i samsvar med gjeldende forholdsregler.<sup>1</sup>

Hold aldri pipetter med reagens i munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver.

Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal de skylles med rikelig vann. Kontakt lege.

Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifisert farging.

Inkubasjonstid eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

## Kvalitetskontroll

Forskjeller i behandlingen av vev og forskjeller i tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan gi signifikant varierte resultater, og det kan være nødvendig å foreta kontroller på stedet i tillegg til prosedyrene angitt nedenfor.

Kontrollene skal være nye autopsi-/biopsi-/kirurgiske prøver, formalinfikserte, behandlede og parafinlagrede så snart som mulig, på samme måte som pasientprøver.

## Positiv Vevskontroll

Brukes for å påvise korrekt vevspreparering og fargeteknikker.

En positiv vevskontroll bør inkluderes for hvert sett med testbetingelser i hver fargerunde.

Svakt positivt farget vev er mer egnet enn kraftig positivt farget vev til optimal kvalitetskontroll og påvisning av små nivåer reagensnedbrytning.<sup>2</sup>

Anbefalt positivt kontrollvev er mandel.

Hvis den positive vevskontrollen ikke viser positiv farging, skal resultatene til testprøvene anses som ugyldige.

## Negativ Vevskontroll

Skal undersøkes etter den positive vevskontrollen for å sikre at det primære antistoffet merker målantigenet spesifikt.

Anbefalt negativt kontrollvev er lillehjernen.

Alternativt har de mange ulike celletypene som finnes i de fleste vevssnittene ofte negative kontrollsteder, men dette må verifiseres av brukeren. Uspesifikk farging, hvis dette er aktuelt, har ofte et diffus utseende.

Sporadisk farging av bindevev kan på samme måte observeres i snitt fra vev som er fiksert for kraftig i formalin. Bruk intakte celler for å tolke fargerresultatene. Nekrotiske eller degenererte celler kan ofte farges uspesifikt.<sup>3</sup>

Falske positive resultater kan skyldes ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. Dette kan også skyldes endogene enzymer som pseudoperoksidase (erythrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre), avhengig av anvendt type immunfarge.

For å differensiere endogen enzymaktivitet eller uspesifikk enzymbinding og spesifikk immunreaktivitet kan ytterligere pasientvev eventuelt farges kun med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det skjer spesifikk farging i den negative vevskontrollen, må resultatene for pasientprøvene anses som ugyldige.

## Negativ reagenskontroll

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet på et snitt av hver pasientprøve for å vurdere uspesifikk farging og for å muliggjøre bedre fortolkning av spesifikk farging på antigenstedet.

## Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-Ki67-MM1 sist. Intensiteten av positiv farging bør vurderes i sammenheng med eventuelt uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med alle immunhistokjemiske tester, betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserte cellene/vevet. Om nødvendig kan man bruke et panel av antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

## Forventede Resultater

### Normalt Vev

Klone MM1 påviste antigenet Ki67 i kjernen til profilerende celler i 11 av 44 normale tilfeller som ble vurdert, inkludert i profilerende celler i kjertelhelrom i ileum, blindtarm, tykktarm og rektum, prolifererende celler i lymfeknuter, thymus, para- og suprabasale celler i tungen, elementer av epitel- og stromale celler i pro-endometrium, elementer av kimeceller i tonsille, elementer av ductceller i bryst og enkelte celler i supra- og parabasale lag i spiserør. (Totalt antall normale tilfeller evaluert = 44).

### Abnormalt Vev

Klone MM1 farget 26 av 70 tumorer som ble vurdert, inkludert brysttumorer (12/29, inkludert 11/26 ductkarcinomer og 1/1 medullær karcinom), lungetumorer (3/4, inkludert 2/2 ikke-småcellede karcinomer og 1/1 plateepitelcellekarcinomer), ovarialtumorer (2/4, inkludert 2/2 cystadenokarcinomer) papillærkarcinomer i skjoldbruskkjertel (1/4), levertumorer (1/4, inkludert 1/1 metastatisk karcinom), plateepitelcellekarcinomer fra livmorhals (2/2), adenokarcinomer fra kolon (2/2), nyrecellekarcinomer (1/2), plateepitelcellekarcinomer fra spiserør (1/1), plateepitelcellekarcinomer fra tunge (1/2), hjernetumorer (0/2), adenokarcinomer fra mage (0/2), bløtvevtumorer (0/2), metastatiske tumorer av ukjent opprinnelse (0/2), testikkelseminomer (0/2), adenokarcinomer fra rektum (0/2) hudtumorer (0/2) plateepitelcellekarcinom fra struphode (0/1) og en atypisk karsinoid tumor fra thymus (0/1). (Totalt antall vurderte tumortilfeller = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 anbefales ved vurdering av celleproliferasjon i normalt og neoplastisk vev.**

## Generelle Begrensninger

Immunhistokjemi er en diagnostisk prosess i flere trinn som omfatter spesialutdanning i valg av egnede reagenser, vevsleksjon, -fiksering og -behandling samt preparering av IHC-objektglass og tolking av fargerresultater. Vevsfarging avhenger av håndteringen og behandlingen av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, snittning eller kontaminering med annet vev eller væsker kan gi artefakter, innfangning av antistoffer eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner ved fiksering eller innstøpningsmetoder eller iboende uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup>

Overdreven eller ufullstendig motfarging kan også gjøre det vanskelig å tolke resultatene riktig.

Den kliniske tolkingen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd skal brukes, som angitt, på enten frose eller parafinlagrede snitt med spesifikke krav til fiksering. Uventet antigenekspresjon kan forekomme, spesielt i neoplasma. Den kliniske tolkingen av fargede vevssnitt må omfatte morfologiske analyser og evaluering av egnede kontroller.

## Bibliografi – Generelt

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Endringer i forhold til Forrige Utgave

Antistoffkonsentrasjon.

## Utgivelsesdato

05 desember 2018

# Novocastra™ Likit Monoklonal Fare Antikor

## Ki67 Antijen

### Ürün Kodu: NCL-L-Ki67-MM1

#### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanımı için.

NCL-L-Ki67-MM1 parafin bölümlerde Ki67 Antijen moleküllerinin ışık mikroskopi ile niteliksel tanımlanması içindir. Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

#### Prosedür Prensipleri

İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, spesifik bir antikorun antijene (primer antikor), ikincil bir antikorun primer antikora ve bir enzim kompleksinin kromojenik bir substrat ile arada yıkama adımları olacak şekilde sekansiyel olarak uygulanmasıyla antijenlerin görselleştirilmesini sağlar. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgede görünür bir reaksiyon ürettiği ile sonuçlanır. Numune bu durumda karşıt boyanabilir ve lamellenebilir. Sonuçlar, bir ışık mikroskopi kullanılarak yorumlanır ve özel bir antijenle birleştirilebilen veya birleştirilemeyen patofizyolojik işlemlerin ayırıcı tanısına yardımcı olur.

#### Clone

MM1

#### İmmünojen

Bir 1086 bp Ki67 motifi içeren cDNA fragmanı karşılık prokaryot rekombinant füzyon proteini.

#### Spesifite

İnsan Ki67 nükleer antijen geç G1, S, M ve hücre döngüsünün G2 aşamalarında tüm çoğalan hücrelerinde ifade etti.

#### Reagent Kompozisyonu

NCL-L-Ki67-MM1, prezervatif olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

#### Ig Sınıfı

IgG1

#### Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özel toplam protein konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

#### Antikor Konsantrasyonu

84 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Lota özel Ig konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

#### Kullanım Tavsiyeleri

Parafin seksiyonlarında immünohistokimya.

**Isı Kaynaklı Epitop Geri Kazanımı (HIER):** Lütfen, Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 içerisindeki kullanım talimatlarını takip edin.

**Önerilen dilüsyon:** 1:200 25 °C'de 30 dakika için. Bu bir kılavuz olarak verilmiştir; kullanıcılar, kendilerine özel optimal çalışma dilüsyonlarını belirlemelidirler.

**Görselleştirme:** Novolink™ Polymer Detection System kullanım talimatlarına uyun. Ürünle ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun veya alternatif olarak [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) Leica Biosystems internet sitesini ziyaret edin.

Bu antikorun performansı, diğer manuel boyama sistemleri veya otomatik platformlarla kullanıldığında doğrulanmalıdır.

#### Saklama ve Dayanıklılık

2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2–8 °C'ye dönün. Viyal etiketinin üzerinde belirtilen son kullanım tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşullarının, kullanıcı tarafından kontrol edilmesi gerekir.

#### Numune Hazırlığı

Önerilen fiksatif, parafine gömülmüş doku seksiyonları için %10 nötr tamponlu formalindir.

#### Uyarılar ve Önlemler

Bu reagent, hücre kültürünün supernatantından hazırlanmıştır. Bu bir biyolojik ürün olduğundan işlem yaparken özel dikkat gerektirir.

Bu reagent, sodyum azit içerir. Talep üzerine veya [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)'dan bir Material Safety Data Sheet (Malzeme Güvenlik Veri Sayfası) elde edilebilir

Potansiyel tüm toksik bileşenlerin imhası için federal, ulusal veya lokal düzenlemelere başvurun.

Fikse etme işleminden önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon yayabilecek gibi ele alınmalı ve doğru önlemler alınarak atığa çıkartılmalıdır.<sup>1</sup>

Reagent'lar asla ağızla pipetlenmemeli ve cildin ve muköz membranların reagent ve numunelerle temasından kaçınılmalıdır.

Reagent veya numunelerin hassas alanlarla temas etmesi durumunda bu alanları bol su ile yıkayın. Doktora başvurun.

Reagent'ların mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi durumda nonspesifik boyamada bir artış ortaya çıkabilir.

Belirtilenlerin dışında inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları, hatalı sonuçlara neden olabilir. Tüm değişiklikler, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kalite Kontrol

Kullanıcının laboratuvarındaki doku işleme ve teknik prosedürlerdeki değişiklikler, sonuçlarda önemli farklılıklara neden olabilir ve aşağıdaki prosedürlere ek olarak dahili kontrollerin düzenli şekilde yapılmasını gerektirir.

Kontroller, mümkün olan en kısa sürede ve hasta örneği (örnekleri) ile aynı şekilde formalinle fikse edilmiş, işlenmiş ve parafin mumuna gömülmüş taze topso/biyopsi/cerrahi numune olmalıdır.

## Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve düzgün boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

Bir pozitif doku kontrolü, her boyama çalıştırmasında test koşullarının her seti için dahil edilmelidir.

Optimal kalite kontrol için ve reagent degradasyonunun minör düzeylerini tespit etmek için zayıf pozitif boyamaya sahip bir doku, güçlü pozitif boyamaya sahip bir dokudan daha uygundur.<sup>2</sup>

Önerilen pozitif kontrol dokusu: bademcik.

Pozitif doku kontrolü, pozitif boyamayı göstermezse test numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak ele alınmalıdır.

## Negatif Doku Kontrolü

Pozitif doku kontrolünden sonra hedef antijenin etiketleme spesifitesini primer antikorla kontrol etmek için gerçekleştirilmelidir.

Önerilen negatif kontrol dokusu: beyincik.

Pek çok doku seksiyonunda bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, genelde negatif kontrol bölgeleri sağlar ancak bu, kullanıcı tarafından kontrol edilmelidir. Nonspesifik boyama, mevcutsa genelde difüz bir görünüme sahiptir.

Bağ dokusu sporadik boyama, aşırı formalinle fikse edilmiş dokulardan seksiyonlarda da gözlemlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanın. Nekrotik veya dejenerer hücreler, genelde belirsiz şekilde boyanabilir.<sup>3</sup>

Yanlış pozitif sonuçlar, substrat reaksiyon ürünleri veya proteinlerin immünojenik olmayan protein bağlanması nedeniyle görülebilir.

Bunlar, kullanılan immüno boyamanın tipine bağlı olarak psödoperoksidad (eritrositler), endojen peroksidad (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimler nedeniyle de ortaya çıkabilir.

Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin nonspesifik bağlanması, spesifik immünoaktiviteden ayırt etmek için ilave hasta dokuları, sadece sırasıyla substrat kromojen veya enzim kompleksleriyle (avidin biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Spesifik boyamanın, negatif doku kontrolünde ortaya çıkması durumunda hasta numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak ele alınmalıdır.

## Negatif Reagent Kontrolü

Antijen bölgede nonspesifik boyamanın değerlendirilmesi ve spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasını sağlamak amacıyla her hasta numunesinin bir seksiyonu ile primer antikorun yerine bir nonspesifik negatif reagent kontrolü kullanın.

## Hasta Dokusu

NCL-L-Ki67-MM1 ile boyanan son hasta numunelerini inceleyin. Pozitif boyama intensitesi, negatif reagent kontrolünün herhangi bir nonspesifik arka plan boyamasının kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal test ile negatif bir sonuç, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir; antijenin test edilen hücrelerde/dokuda mevcut olmadığı anlamına gelmez. Gerekliyse yanlış negatif reaksiyonları belirlemek için bir antikor paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

MM1 klonu, ileum, kolon, çekum, rektum kripleri içerisindeki proliferatif hücreler, lenf düğümü, timus, dil para ve suprabazal hücreleri içerisindeki proliferatif hücreler, pro-endometriyum epitel ve stromal hücre elemanları, bademcik germinal merkez elemanları, göğüs kanalsı hücre elemanları ve özofagus supra ve parabazal katmanlarındaki nadir hücreler de dahil olmak üzere değerlendirilen normal vakalarda 11/44 oranında proliferatif hücrelerin çekirdeklerinde Ki67 antijeni tespit etmiştir. (Değerlendirilen toplam normal vaka sayısı = 44).

### Abnormal Dokular

MM1 klonu, göğüs tümörleri (11/26 kanalsı karsinomlar ve 1/1 meduller karsinomlar dahil 12/29), akciğer tümörleri (2/2 küçük olmayan hücre karsinomu ve 1/1 sküamöz hücre karsinomu dahil 3/4), overyen tümörleri (2/2 kistadenokarsinomları dahil 2/4), tiroid papiller karsinomları (1/4), karaciğer tümörleri (1/1 metastatik karsinomlar dahil 1/4), serviks sküamöz hücre karsinomları (2/2), kolon adenokarsinomları (2/2), renal hücre karsinomları (1/2), özofagus sküamöz hücre karsinomları (1/1), dil sküamöz hücre karsinomları (1/2), beyin tümörleri (0/2), mide adenokarsinomları (0/2), yumuşak doku tümörleri (0/2), bilinmeyen kaynaklı metastatik tümörler (0/2), testis seminomları (0/2), rektum adenokarsinomları (0/2), cilt tümörleri (0/2), gırtlak sküamöz hücre karsinomu (0/1), tipik olmayan bir timüs karsinoid tümörü (0/1) de dahil olmak üzere değerlendirilen tümörlerde 26/70 oranında boyama yapmıştır. (Değerlendirilen toplam tümör vakası sayısı = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1, normal ve neoplastik dokularda hücre proliferasyonunun değerlendirilmesi için önerilir.**

## Genel Sınırlamalar

İmmünohistokimya uygun reagent'ların seçilmesinde; dokunun seçilmesi, fikse edilmesi ve işlenmesinde; IHC laminin hazırlanmasında ve boyama sonuçlarının yorumlanmasında uzmanlık eğitimi gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir. Doku boyama, boyamadan önce dokunun ele alınması ve işlenmesine bağlıdır. Diğer dokularla veya akışkanlarla hatalı fikse etme, dondurma, eritme, yıkama, kurutma, ısıtma, seksiyonlama veya kontaminasyon artefakt, antikor trapping veya yanlış negatif sonuçlar oluşabilir. Doku içerisinde fikse etme ve gömme yöntemleri veya inherent aksaklıklar nedeniyle tutarsız sonuçlar ortaya çıkabilir.<sup>4</sup>

Aşırı veya inkomplet karşıt boya, sonuçların doğru yorumlanmasına engel olabilir.

Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd antikorları, belirttiği gibi spesifik fikse etme işlemleri gerektiren dondurulmuş veya parafine gömülmüş seksiyonlarda kullanılmak içindir. Özellikle neoplazmalarda beklenmedik antijen ekspresyonu ortaya çıkabilir. Boyanan doku seksiyonunun klinik yorumu, morfolojik analiz ve uygun kontrollerin değerlendirilmesini içermelidir.

## Kaynakça - Genel

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology.2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## Önceki Baskıya Göre Değişiklikler

Antikor Konsantrasyonu.

## Yayın tarihi

05 Aralık 2018

# Течно мише моноклонално антитяло Novocastra™

## Ki67 Antigen

### Код на продукта: NCL-L-Ki67-MM1

#### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-Ki67-MM1 е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на молекули антиген Ki67 в парафинови срези. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

#### Принцип на процедурата

Техниките на имунохистохимично (IHC) оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно приложение на специфично антитяло на антигена (първично антитяло), вторично антитяло на първичното антитяло и ензимен комплекс с хромогенен субстрат, с междинни стъпки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това може да се направи контраоцветяване на слагимена и да се постави покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с използване на оптичен микроскоп и са в помощ при диференциалната диагностика на патологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

#### Клонинг

MM1

#### Имуноген

Прокариотен рекомбинантен синтезиран протеин, съответстващ на 1086bp Ki67 мотив-съдържащ сДНК фрагмент.

#### Специфичност

Човешкият ядрен антиген Ki67 показва експресия при всички пролифериращи клетки в рамките на късните G1, S, M и G2 фази на клетъчния цикъл.

#### Състав на реагента

NCL-L-Ki67-MM1 е течен супернатант от тъканна култура, съдържащ натриев азид като консервант.

#### Имуноглобулинов клас

IgG1

#### Обща концентрация на протеин Total Protein

Вижте етикета на флакона относно специфичната за партидата концентрация на общ протеин.

#### Концентрация на антитела

По-голяма или равна на 84 mg/L. Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата концентрация на имуноглобулин.

#### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

**Термично индуцирано извличане на епитоп (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Моля, спазвайте инструкциите за употреба, включени в опаковката на Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Предложение за разреждане:** 1:200 за 30 минути при 25°C. Това е дадено като указание, като потребителите трябва сами да определят техни собствени оптимални работни разреждания.

**Визуализация:** Спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novolink™ Polymer Detection Systems. За допълнителна информация за продукта или помощ се свържете с вашия местен дистрибутор или с регионалния офис на Leica Biosystems, а също така може да посетите уебсайта на Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Действието на това антитяло трябва да бъде валидирано при употреба с други мануални системи за оцветяване или автоматизирани платформи.

#### Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8°C. Да не се замразява. Да се върне на температура 2 – 8°C веднага след употреба. Да не се използва след срока на годност, отбелязан върху етикета на флакона. Други условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя.

#### Подготовка на спесимени

Препоръчителният фиксиращ разтвор е неутрален буфериран формалин 10% за тъканни срези, вградени в парафин.

#### Предупреждения и предпазни мерки

Този реагент е приготвен от супернатант от клетъчна култура. Тъй като е биологичен продукт, необходимо е повишено внимание при работа с него.

Този реагент съдържа натриев азид. Информационният лист за безопасност на материалите е наличен при запитване или от [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.

Всички спесимени преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тях, трябва да се третира като възможни

переносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.<sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ. Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване. Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

## Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да доведат до значително вариране на резултатите, налагащо редовно извършване на вътрешен контрол в допълнение към следните процедури.

Контролите трябва да са свежи спесимени, взети по време на аутопсия/биопсия/операция, фиксирани във формалин, обработени и вградени в парафинов восък, възможно най-бързо, по същия начин като проба(та) на пациента(ите).

## Позитивна тъканна контрола

Използва се, за да се покажат правилно приготвени тъкани и правилни техники на оцветяване.

Една позитивна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тестови условия при всяка серия проби за оцветяване.

Тъкан със слабо позитивно оцветяване е по-подходяща от тъкан със силно позитивно оцветяване за оптимален качествен контрол и за откриване на по-малки нива на деградация на реагента.<sup>2</sup>

Препоръчителната позитивна тъканна контрола е сливица.

Ако позитивната тъканна контрола не показва позитивно оцветяване, резултатите от спесимените, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

## Негативна тъканна контрола

Трябва да се изследва след позитивната тъканна контрола, за да се провери специфичността на белязването на таргетния антиген от първичното антияло.

Препоръчителната тъкан за негативна контрола е малкият мозък.

Алтернативно, разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъкани срези, често предлага места за негативна контрола, но това трябва да се провери от потребителя.

Неспецифичното оцветяване, ако присъства, обикновено е дифузно на вид. Спорадично оцветяване на съединителна тъкан може да се наблюдава и в части от прекомерно фиксирани във формалин тъкани. Използвайте интактни клетки за интерпретация на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенериралите клетки често се оцветяват неспецифично.<sup>3</sup>

Може да се видят неверни позитивни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата. Те може да са причинени и от ендогенни ензими, като например псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване. За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имунна реактивност ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или с ензимни комплекси (авидин-биотин, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в негативната тъканна контрола, резултатите от спесимените на пациентите трябва да се считат за невалидни.

## Негативна контрола на реагента

Използвайте неспецифична негативна контрола на реагента, вместо първичното антияло, със срез от всеки спесимен на пациента, за да се направи оценка на неспецифичното оцветяване и да се даде по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на мястото на антигена.

## Тъкан от пациента

Спесимените на пациенти, оцветени с NCL-L-Ki67-MM1, трябва да се изследват последни. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Като при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираниите клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антитела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

Клонинг MM1 открива антигена Ki67 в ядрото на пролифериращи клетки при 11/44 оценени нормални случая, включително пролифериращи клетки в крипти на илеума, цекума, ободното и правото черво, пролифериращи клетки в лимфния възел, телиума, пара и супрабазалните клетки на езика, елементите на епителната и стромалната клетка на про-ендометриума, елементите на зародишния център при сливицата, елементите на дукталната клетка на гърдата и отделни клетки в супра и парабазалните слоеве на хранопровода. (Общ брой на оценените нормални случаи = 44).

### Абнормни тъкани

Клонинг MM1 оцветява 26/70 оценени тумора, включително тумори на гърдата (12/29 включително 11/26 дуктални карцинома и 1/1 медуларен карцином), белодробни тумори (3/4, включително 2/2 недребноклетъчни карцинома и 1/1 плоскоклетъчен карцином), тумори на яйчниците (2/4, включително 2/2 цистаденокарцинома), папиларни карциноми на щитовидната жлеза (1/4), чернодробни тумора (1/4, включително 1/1 метастатичен карцином), плоскоклетъчни карциноми на цервикса (2/2), аденокарциноми на ободното черво (2/2), бъбречноклетъчни карциноми (1/2), плоскоклетъчен карцином на хранопровода (1/1), плоскоклетъчен карцином на езика (1/2), мозъчни тумори (0/2), аденокарциноми на стомаха (0/2), тумори на меките тъкани (0/2), метастатични тумори от неизвестен произход (0/2), семиноми на тестиците (0/2), аденокарциноми на правото черво (0/2), кожни тумори (0/2), плоскоклетъчен карцином на ларинкса (0/1), атипичен карциноиден тумор на тимуса (0/1). (Общ брой на оценените случаи на тумор = 70).

**Продуктът NCL-L-Ki67-MM1 се препоръчва за оценка на клетъчната пролиферация в нормални и неопластични тъкани.**



## Общи ограничения

Имунохистохимията е многостъпков диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи реагенти, избор на тъкани, фиксация и обработка, подготовка на предметното стъкло за имунохистохимия и интерпретация на резултатите от оцветяването.

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, срязване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини поява на артефакти, блокиране на антителата или фалшиво отрицателни резултати. Несъответстващите резултати може да се дължат на вариации в методите на фиксация и вграждане или на присъща нерегулярност в тъканта.<sup>4</sup> Прекомерното или непълно контраоцветяване може да попречи на правилната интерпретация на резултатите.

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Антителата от Leica Biosystems Newcastle Ltd са предназначени за употреба, както е указано, върху замразени или вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазия. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценката на подходящи контроли.

## Библиография – основна

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rike F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretto G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Top SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198–200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Изменения на предишно издание

Концентрация на антитела.

## Дата на издаване

05 Декември 2018

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest

## Ki67 Antigen

### Termékkód: NCL-L-Ki67-MM1

#### Alkalmazási terület

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-Ki67-MM1 a Ki67 antigén molekulák fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

#### Az eljárás elve

Az immunhisztokémiai (immunohistochemical, IHC) megfestési technikák az antigén elleni specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest elleni másodlagos antitest és egy enzim kromogén szubsztrátból alkotott komplexének egymás után következő alkalmazásán keresztül, közébeiktott mosási lépések mellett lehetővé teszik az antigének megjelenítését. A kromogén enzimaktiválása látható reakcióterméket eredményez az antigén helyén. Ezután a minta kontrasztfesthető és lefedhető. Az eredmények fénymikroszkóp használatával értelmezhetők, majd segítségül használhatók a patofiziológias folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok az esetek egy részében konkrét antigénhez kapcsolódnak.

#### Klón

MM1

#### Immunogén

Az 1086 bázispárból álló Ki67 motívumot tartalmazó cDNS fragmentumnak megfelelő prokarióta eredetű rekombináns fúziós fehérje.

#### Specifititás

A sejtciklus késői G1, S, M és G2 fázisaiban minden proliferáló sejtben kifejeződő humán Ki67 nukleáris antigén.

#### A reagens összetétele

Az NCL-L-Ki67-MM1 egy a tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

#### Ig-osztály

IgG1

#### Összfehérje-koncentráció Total Protein

A sarzspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

#### Antitest-koncentráció

Legalább 84 mg/l. A sarzspecifikus Ig-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

#### Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémiai paraffinos metszeteken.

**Hőindukált epitópfeltárás (heat induced epitope retrieval, HIER):** Kövesse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 termék használati útmutatóját.

**Javasolt hígítás:** 1:200, 30 percen át, 25 °C-on. Az adatok csak útmutatásul szolgálnak, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkaadataikat.

**Megjelenítés:** Kövesse a Novolink™ Polymer Detection Systems rendszerek használati útmutatóját. További termékinformációkért vagy támogatásért forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

Az antitest teljesítményét validálni kell, ha azt más manuális festési rendszerrel vagy automata platformmal használja.

#### Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos fagyasztani. Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre. Ne használja az üveg címkéjén feltüntetett lejárati dátum után. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell.

#### A minták előkészítése

A javasolt fixálószer a paraffinba ágyazott szövetmetszeteknél 10%-os, semleges pufferolású formalin.

#### Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejt-kultúra felülúszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor ésszerű körültekintéssel kell eljárni.

Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági adatlap kérésre rendelkezésre áll, vagy letölthető a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) oldalról.

Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.

A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani.<sup>1</sup> Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.

Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.

A megadottaktól eltérő inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

## Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában alkalmazott szövETFeldolgozási és technikai eljárások eltérései jelentős különbséget okozhatnak az eredményeknek, ami az alábbi eljárásokon túl belső kontrollok rendszeres futtatását teszi szükségessé.

Kontrollként friss boncolási/biopsziás/sebészeti mintákat kell használni, amelyeket a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formalinban fixálni, feldolgozni és paraffinvaszba ágyazni.

## Pozitív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

Minden tesztelési körülménygyűttes esetében és minden megfestési sorozatban kell alkalmazni egy pozitív szövetkontrollt.

A gyengén pozitív festődésű szövet alkalmasabb az erősebben pozitív festődésű szövetnél az optimális minőség-ellenőrzéshez, valamint a kismértékű reagensbomlás észleléséhez.<sup>2</sup>

A javasolt pozitív kontrollszövet a tonsilla.

Ha a pozitív szövetkontroll nem mutat pozitív festődést, a vizsgált minták eredményeit érvénytelenek kell tekinteni.

## Negatív szövetkontroll

A pozitív szövetkontroll után azért kell megvizsgálni, hogy a vizsgált antigén elsődleges antitest segítségével történő jelölésének specificitását ellenőrizni lehessen.

A javasolt negatív kontrollszövet a kisagy.

Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelen lévő különböző sejttípusok gyakran használhatók negatív kontrollként, de ezeket a felhasználónak kell ellenőriznie.

Ha van nem specifikus festődés, az rendszerint diffúz megjelenésű. A formalinban túlfixált szövetekből származó metszeteknél a kötőszövet szöványos festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejteket használjon. A nekrotizált vagy degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> A fehérjék vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Az alkalmazott immunfestés típusától függően álpozitív eredményeket okozhatnak olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (vörösréseitek), endogén peroxidáz (citokróm C), illetve endogén biotin (pl. máj, emlő, agy, vese). Az endogén enzim aktivitásának vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére további betegszövetek festhető kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimmolekulákkal (avidin-biotin, sztreptavidin, jelölt polimer) és szubsztrát–kromogénnel. Ha a negatív szövetkontroll specifikus festődést mutat, a betegminták eredményeit érvénytelenek kell tekinteni.

## Negatív reagenskontroll

A nem specifikus festődés kiértékeléséhez és az antigén helyén létrejövő specifikus festődés jobb értelmezéséhez minden betegminta esetén egy metszetet alkalmazzon az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt.

## Betegszövet

Az NCL-L-Ki67-MM1 reagenssel festett betegmintákat vizsgálja meg utolsóként. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagenskontroll esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje. Mint minden immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtekben/szövetben. Szükség esetén az álnegatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

## Várható eredmények

### Normál szövetek

Az MM1 klón kimutatta a Ki67 antigént 11/44 egészséges kiértékelt esetben, közöttük az ileum, cecum, vastagbél és végbél osztódó sejteiben, a nyirokcsomók és csecsemőmirigy osztódó sejteiben, a nyelv parabazális és szuprabazális sejteiben, a pro-endometrium háms- és sztrómaszites elemeiben, a tonsilla csírákózponti elemeiben, az emlő duktális sejtjelemben, valamint a nyelőcső szuprabazális és bazális rétegének szöványos sejteiben. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 44).

### Kóros szövetek

Az MM1 klón megfestett 26/70 kiértékelt daganatot, beleértve emlődaganatokat (12/29, közöttük 11/26 duktális karcinómát és 1/1 medulláris karcinómát), tüdődaganatokat (3/4, közöttük 2/2 nem kissejtes karcinómát és 1/1 laphámsejtes karcinómát), petefészekdaganatokat (2/4, közöttük 2/2 cisztadenokarcinómát), papilláris pajzsmirigy-karcinómákat (1/4), májdaganatokat (1/4, közöttük 1/1 áttétes karcinómát), laphámsejtes méhnyakkarcinómákat (2/2), vastagbél-adenokarcinómákat (2/2), vesesejtes karcinómákat (1/2), laphámsejtes nyelőcső-karcinómát (1/1), laphámsejtes nyelvkarcinómákat (1/2), agydaganatokat (0/2), gyomor-adenokarcinómákat (0/2), lágyszöveti daganatokat (0/2), ismeretlen eredetű áttétes daganatokat (0/2), hereszeminómákat (0/2), végbél-adenokarcinómákat (0/2), bőrdaganatokat (0/2), laphámsejtes gégekarinómát (0/1) és atipikus csecsemőmirigy-karcinoid daganatot (0/1). (Vizsgált tumoresetek összesített száma = 70.)

### Az NCL-L-Ki67-MM1 a sejtproliferáció felmérésére ajánlott egészséges és tumoros szövetekben.

## Általános korlátozások

Az immunhisztokémia több lépésből álló diagnosztikai folyamat, amely a következőket foglalja magában: speciális képzés alapján a megfelelő reagens kiválasztása; a szövetek kiválasztása, fixálása és feldolgozása; az IHC tárgylemez előkészítése; és a festési eredmények értelmezése.

A szövet festődése függ a szövet festés előtti kezelésétől és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, a fagyasztás, olvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszetkészítés, illetve a más szövetekkel vagy folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve álnegatív eredményeket okozhat. Ellenmondó eredményekhez vezethetnek a fixálási vagy beágyazási módszerek eltérései, illetve a szövet eredendő rendellenességei.<sup>4</sup>

A túlzott vagy hiányos kontrastfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

Minden festődés megjelétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd által biztosított antitestek specifikus fixálási követelmények mellett, az utasításoknak megfelelően fagyaszott vagy paraffinba ágyazott metszeteken történő felhasználásra szolgálnak. Időnként váratlan antigén-expresszió fordulhat elő, különösen daganatok esetében. Bármely festett szövetszövet klinikai értelmezéséhez morfológiai elemzést is kell végezni, és ki kell értékelni a megfelelő kontrollokat.

## **Bibliográfia – általános**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## **Módosítások az előző változathoz képest**

Antitest-koncentráció.

## **Kiadás dátuma**

05 december 2018

# Novocastra™ Anticorp lichid monoclonal de șoarece

## Ki67 Antigen

### Cod produs: NCL-L-Ki67-MM1

#### Utilizare prevăzută

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-Ki67-MM1 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a moleculelor antigen Ki67 în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

#### Principiul de procedură

Tehnicele de colorare imunohistochimică (IHC) permit vizualizarea antigenilor prin aplicarea secvențială a unui anumit anticorp pe antigen (anticorp primar), a unui anticorp secundar pe anticorpul primar și a unui complex enzimatic cu un substrat cromogen, cu etape de spălare intercalate. Activarea enzimatică a cromogenului duce la un produs de reacție vizibil la locul aplicării antigenului. Specimenul poate fi apoi contracolorat și acoperit cu lamelă. Rezultatele sunt interpretate folosind un microscop optic și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor patofiziologice, care pot sau nu să fie asociate cu un anumit antigen.

#### Clonă

MM1

#### Imunogen

Proteină procariotică recombinantă de fuziune corespunzând unui fragment de cDNA 1086 bp Ki67 conținând motive.

#### Specificitate

Antigenul nuclear Ki67 uman a fost exprimat în toate celulele proliferante în fazele târzii G1, S, M și G2 ale ciclului celular.

#### Compoziția reactivului

NCL-L-Ki67-MM1 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

#### Clasa Ig

IgG1

#### Concentrație proteină totală Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

#### Concentrație anticorpi

Mai mare decât sau egală cu 84 mg/L. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

#### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

**Recuperarea indusă de căldură a epitopilor (HIER):** Urmați instrucțiunile de utilizare din Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluție sugerată:** 1:200 timp de 30 de minute la 25 °C. Aceste informații sunt furnizate cu rol de îndrumare, iar utilizatorii trebuie să-și stabilească singuri propriile diluții de lucru optime.

**Vizualizare:** Respectați instrucțiunile de utilizare din Novolink™ Polymer Detection Systems. Pentru asistență sau informații suplimentare cu privire la produs, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Eficiența acestui anticorp trebuie validată atunci când este utilizat cu alte sisteme de colorare manuală sau alte platforme automatizate.

#### Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se congela. A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta flaconului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator.

#### Pregătirea specimenului

Mediul de fixare recomandat este formalină tamponată neutru 10% pentru secțiunile de țesut încorporate în parafină.

#### Avertismente și precauții

Acest reactiv a fost pregătit din supernatantul culturii celulare. Întrucât este un produs biologic, trebuie să se acționeze cu prudență rezonabilă la manipularea sa.

Acest reactiv conține azidă de sodiu. O Fișă tehnică de securitate a materialului este disponibilă la cerere sau pe site-ul [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consultați reglementările naționale sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurii a tuturor componentelor potențial toxice. Probele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate la deșeurii luând măsurile de precauție adecvate.<sup>1</sup> Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.

Timpii sau temperaturile de incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificări trebuie validate de către utilizator.

## Controlul calității

Diferențele în ceea ce privește procesarea țesutului și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului pot cauza o variabilitate semnificativă a rezultatelor, necesitând efectuarea cu regularitate de controale interne, în plus față de următoarele proceduri. Probele de control trebuie să fie probe proaspete de autopsie/biopsie/chirurgicale, fixate în formalină, procesate și încorporate în ceară de parafină cât mai curând posibil și în aceeași manieră ca și probele pacientului.

### Țesutul de control pozitiv

Folosit pentru a indica țesuturile pregătite corect și tehnicile de colorare adecvate.

O probă de țesut de control pozitiv trebuie să fie inclusă pentru fiecare set de condiții de testare în fiecare etapă de colorare.

Un țesut cu colorare pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorare pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului.<sup>2</sup>

Țesutul de control pozitiv recomandat este de amigdale.

Dacă țesutul de control pozitiv nu demonstrează colorația pozitivă, rezultatele obținute cu acele probe de testare trebuie considerate nevalide.

### Țesutul de control negativ

Trebuie examinat după țesutul de control pozitiv pentru a verifica specificitatea informațiilor de etichetare ale antigenului țintă în funcție de anticorpii primari.

Țesutul de control negativ recomandat este cerebelul.

Ca alternativă, varietatea de tipuri diferite de celule prezente în majoritatea secțiunilor tisulare oferă frecvent locuri de control negativ, dar acest lucru trebuie verificat de către utilizator.

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are, de obicei, un aspect difuz. Colorația sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată, de asemenea, în secțiuni de țesuturi fixate în mod excesiv în formalină. Folosiți celule intacte pentru interpretarea rezultatelor de colorare. Celulele necrotice sau degenerate se colorează deseori într-un mod nespecific.<sup>3</sup> Se pot observa rezultate fals pozitive ca urmare a legării non-immunologice a proteinelor sau produșilor de reacție ai substratului. Acestea pot fi cauzate, de asemenea, de enzimele endogene precum pseudoperoxidaza (eritrocite), peroxidaza endogenă (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, encefal, rinichi), în funcție de tipul de imunocolorație folosit. Pentru a diferenția activitatea enzimelor endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, pot fi colorate țesuturi suplimentare de la pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

### Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ non-specific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen al pacientului pentru a evalua colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorării specifice la situsul antigenului.

### Țesutul pacientului

Examinați speciunile pacientului colorate cu NCL-L-Ki67-MM1 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fond nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un panou pentru anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Clona MM1 a detectat antigenul Ki67 în nucleele celulelor proliferante în 11/44 cazuri normale evaluate, incluzând celule proliferante din criptele ileonului, cecului, colonului și rectului, celule proliferante din ganglion limfatic, timus, celule para și suprabazale ale limbii, elemente celulare epiteliale și stromale ale pro-endometriului, elemente ale centrului germinal al amigdalei, elemente celulare ductale ale sânelui și ocazional celule în stratele supra și parabazale ale esofagului. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 44).

### Țesuturi anormale

Clona MM1 a colorat 26/70 tumori evaluate, incluzând tumori mamare (12/29, incluzând 11/26 carcinoame ductale și 1/1 carcinom medular), tumori pulmonare (3/4, incluzând 2/2 carcinom non-microcelular and 1/1 carcinom cu celule scuamoase), tumori ovariene (2/4, incluzând 2/2 chistadenocarcinoame), carcinoame papilare tiroidiene (1/4), tumori hepatice (1/4, incluzând 1/1 carcinoame metastactice), carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin (2/2), adenocarcinoame ale colonului (2/2), carcinoame cu celule renale (1/2), carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului (1/1), carcinoame cu celule scuamoase ale limbii (1/2), tumori cerebrale (0/2), adenocarcinoame ale stomacului (0/2), tumori ale țesuturilor moi (0/2), tumori metastactice de origine necunoscută (0/2), seminoame testiculare (0/2), adenocarcinoame ale rectului (0/2), tumori ale pielii (0/2), un carcinom cu celule scuamoase al laringelui (0/1), o tumoră carcinoidă atipică a timusului (0/1). (Numărul total al cazurilor tumorale evaluate = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 este recomandat pentru evaluarea proliferării celulelor în țesuturi normale și neoplazice.**

## Limitări generale

Imunohistochimia este un proces de diagnostic cu mai multe etape, care constă din instruirea specializată în ceea ce privește alegerea reactivilor adecvați; alegerea, fixarea și procesarea țesutului; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor de colorare.

Colorarea tisulară depinde de manipularea și procesarea țesutului înainte de colorare. Fixarea, congelarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea necorespunzătoare sau contaminarea cu alte țesuturi ori fluide pot cauza artefacte, captura anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele incoerente pot fi atribuite diferențelor în ceea ce privește metodele de fixare și încorporare, ori neregularităților inerente ale țesutului.<sup>4</sup>

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Anticorpii de la Leica Biosystems Newcastle Ltd sunt destinați utilizării, conform indicațiilor, fie pe secțiuni congelate, fie pe secțiuni încorporate în parafină cu cerințe de fixare specifice. Poate apărea exprimarea neașteptată a antigenului, în special în neoplasm.

Interpretarea clinică a oricărei secțiuni tisulare colorate trebuie să includă analiza morfologică și evaluarea probelor de control adecvate.

## **Bibliografie - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## **Amendamente la ediția anterioară**

Concentrație anticorpi.

## **Data publicării**

05 decembrie 2018

# Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ Ki67 Antigen

## Код продукта: NCL-L-Ki67-MM1

### Назначение

*Для диагностики in vitro*

Препарат NCL-L-Ki67-MM1 предназначен для качественного определения молекул антигена Ki67 в парафиновых срезах методом световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

### Принцип метода

Иммуногистохимические (ИГХ) методы окрашивания позволяют визуализировать антигены путем последовательного связывания специфического антитела с антигеном (первичное антитело), вторичного антитела с первичным антителом и ферментного комплекса с хромогенным субстратом. Между этими этапами выполняется промежуточная промывка. Ферментная активация хромогена приводит к образованию видимого продукта реакции в месте расположения антигена. После этого образцы можно подвергать контрастному окрашиванию и заключить под покровную пленку. Интерпретацию результатов выполняют под световым микроскопом и используют для дифференциальной диагностики патофизиологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с конкретным антигеном.

### Клон

MM1

### Иммуноген

Рекомбинантный слитый белок из прокариотических клеток, соответствующий 1086 bp Ki67 мотив-содержащему фрагменту кДНК.

### Специфичность

Ki67 ядерный антиген человека экспрессировался на всех пролиферирующих клетках во время следующих фаз клеточного цикла: поздняя G1, S, M и G2.

### Состав реактива

NCL-L-Ki67-MM1 является супернатантом жидкой культуры тканей, содержащим азид натрия в качестве консерванта.

### Класс иммуноглобулинов

IgG1

### Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 84 мг/л. Общая концентрация иммуноглобулина в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

**Тепловая демаскировка эпитопа (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** выполняйте инструкцию по применению, прилагаемую к препарату Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Рекомендуемое разведение:** 1:200 в течение 30 минут при температуре 25 °С. Данная информация носит рекомендательный характер, и пользователям следует самостоятельно определять оптимальные рабочие разведения.

**Визуализация:** Следуйте инструкциям по применению, которые прилагаются к системам визуализации Novolink™ Polymer Detection Systems. Для получения дополнительной информации о продукции и технической поддержке обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems либо, в качестве альтернативы, посетите веб-сайт компании Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

В случае применения этого антитела с другими ручными системами окрашивания или автоматизированными платформами следует выполнять валидацию его рабочих параметров.

### Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживать. После использования незамедлительно вернуть на хранение при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке флакона даты истечения срока годности. Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть проверены пользователем.

### Подготовка образцов

Для приготовления залитых в парафин срезов тканей рекомендуется фиксация в 10 % нейтральном забуференном формалине.

### Предупреждения и меры предосторожности

Этот реактив был изготовлен из супернатанта культуры клеток. При обращении с этим продуктом, как и с другими биологическими продуктами, следует соблюдать разумную осторожность.



Этот реактив содержит азид натрия. Паспорт безопасности химической продукции предоставляется по запросу или доступен на сайте [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

В отношении утилизации любых потенциально опасных компонентов следуйте требованиям федеральных, региональных и местных нормативных документов.

С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, которые находятся под их воздействием, следует обращаться как со способами к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности.<sup>1</sup> Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом и не допускайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.

Сведите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

## Контроль качества

Различия в методах обработки тканей и технических процедурах, выполняемых в лаборатории пользователя, могут привести к существенной вариабельности результатов, в связи с чем требуется регулярное выполнение внутрिलाбораторных контролей в дополнение к указанным ниже процедурам.

В качестве контролей следует использовать свежие образцы, полученные при аутопсии, биопсии или хирургических процедурах, фиксированные в формалине, обработанные и как можно скорее залитые в парафин так же, как были обработаны полученные у пациентов образцы.

## Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

В каждый набор условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один срез ткани для положительного контроля. Для оптимального контроля качества и обнаружения незначительных уровней деградации реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.<sup>2</sup>

В качестве положительного контроля рекомендуется использовать ткань миндалин.

При отсутствии положительного окрашивания ткани, используемой в качестве положительного контроля, результаты, полученные с исследуемыми образцами, считаются недействительными.

## Отрицательный контроль ткани

Этот тест необходимо выполнять после положительного контроля ткани для проверки специфичности мечения целевого антигена первичным антителом.

В качестве отрицательного контроля рекомендуется ткань мозжечка.

Кроме того, разнообразные типы клеток для отрицательного контроля можно часто найти в большинстве срезов тканей, однако такие препараты должны быть проверены пользователем.

Неспецифическое окрашивание, если оно присутствует, обычно выглядит диффузным. В срезах тканей, избыточно фиксированных формалином, можно также иногда увидеть окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации результатов окрашивания используйте интактные клетки. Некротизированные или разрушенные клетки часто окрашиваются неспецифически.<sup>3</sup> Неиммунное связывание белков или продуктов реакции с субстратом может привести к ложноположительным результатам. Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах), эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, головном мозге или почке) в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания. Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифическое связывание ферментов от специфической иммуореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно хромогенным субстратом или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и хромогенным субстратом соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном контроле ткани результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

## Отрицательный контроль реактива

Для оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания в области связывания антигена, исследуя срезы каждого образца, взятого у пациента, вместо первичных антител используйте реактив, служащий в качестве неспецифического отрицательного контроля.

## Ткань, полученная у пациента

Исследуйте полученные у пациентов образцы, окрашенные NCL-L-Ki67-MM1, в последнюю очередь. Интенсивность положительного результата окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фоновое окрашивания реактива, представляющего собой отрицательный контроль. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или ткани. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

## Ожидаемые результаты

### Нормальные ткани

Клон MM1 обнаружил антиген Ki67 в ядрах пролиферирующих клеток в 11/44 исследованных нормальных тканях, включая пролиферирующие клетки в криптах подвздошной кишки, слепой кишки, толстого кишечника и прямой кишки, пролиферирующие клетки в лимфатических узлах, вилочковой железе, пара- и надбазальные клетки языка, элементы эпителиальных и стромальных клеток проэндометрия, элементы зародышевых центров миндалин, элементы протоковых клеток молочной железы и отдельные клетки в супра- и парабазальном слое пищевода. (Общее число исследованных нормальных тканей = 44).

### Патологически измененные ткани

Клон MM1 окрасил 26/70 исследованных опухолей, включая опухоли молочной железы (12/29, включая 11/26 случаев карциномы проток и 1/1 случая медуллярной карциномы), опухоли легких (3/4, включая 2/2 случаев немелкоклеточной

карциномы и 1/1 случая плоскоклеточной карциномы), опухоли яичников (2/4, включая 2/2 случаев цистаденокарциномы), папиллярные карциномы щитовидной железы (1/4), опухоли печени (1/4, включая 1/1 случая метастатической карциномы), плоскоклеточные карциномы шейки матки (2/2), аденокарциномы толстого кишечника (2/2), почечно-клеточные карциномы (1/2), плоскоклеточные карциномы пищевода (1/1), плоскоклеточные карциномы языка (1/2), опухоли мозга (0/2), аденокарциномы желудка (0/2), опухоли мягких тканей (0/2), метастатические опухоли неизвестного происхождения (0/2), семиномы яичек (0/2), аденокарциномы прямой кишки (0/2), опухоли кожи (0/2), плоскоклеточные карциномы гортани (0/1), атипичные карциноидные опухоли вилочковой железы (0/1). (Общее число исследованных опухолей = 70).

**Реактив NCL-L-Ki67-MM1 рекомендуется использовать для оценки пролиферации клеток в здоровых и пораженных опухолю тканей.**

## **Общие ограничения**

Иммуногистохимическое исследование является многостадийным диагностическим процессом, требующим специальных навыков в выборе надлежащих реактивов; выборе, фиксации и обработке тканей; приготовлении среза с ИГХ препаратом; интерпретации результатов окрашивания.

Окрашивание тканей зависит от обращения с тканями и их обработкой перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями или жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам. Противоречивые результаты могут быть обусловлены различиями методов фиксации и заливки препарата или присущей тканям внутренней неравномерностью структуры.<sup>4</sup>

Чрезмерное или неполное контрастирование может негативно отразиться на точности интерпретации результатов.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Изготовленные компанией Leica Biosystems Newcastle Ltd антитела предназначены, как указано выше, для применения на замороженных или залитых в парафин срезах и требуют выполнения конкретных требований по фиксации. Возможна непредвиденная экспрессия антигена, особенно в опухолях. Клиническая интерпретация любого окрашенного среза ткани должна включать морфологический анализ и оценку соответствующих контролей.

## **Литература — общая**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## **Дополнения к предыдущему выпуску**

Концентрация антител.

## **Дата выпуска**

05 Декабрь 2018

# Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™

## Ki67 Antygen

### Kod produktu: NCL-L-Ki67-MM1

#### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Preparat NCL-L-Ki67-MM1 jest przeznaczony do identyfikacji jakościowej w mikroskopii świetlnej cząsteczek antygeny Ki67 w skrawkach parafinowych. Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

#### Zasady postępowania

Metody barwienia immunohistochemicznego (IHC) umożliwiają wizualizację antygenów dzięki zastosowaniu – po kolei – swoistego przeciwciała przeciwko antygenowi (przeciwciała pierwszorzędowego), przeciwciała drugorzędowego przeciwko przeciwciału pierwszorzędowemu i kompleksu enzymu z substratem chromogennym z etapami przemycania. Aktywacja enzymatyczna chromogenu prowadzi do wytworzenia widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Następnie można wykonać barwienie kontrastowe próbki i zakryć ją szkiełkiem nakrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu świetlnego i pomagają w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek z określonym antygenem.

#### Klon

MM1

#### Immunogen

Prokariotyczne rekombinowane białko fuzyjne odpowiadające fragmentowi cDNA zawierającemu motyw 1086 bp Ki67.

#### Swoistość

Ludzki antygen jądrowy Ki67 ulega ekspresji we wszystkich komórkach proliferujących podczas późnych faz G1, S, M i G2 cyklu komórkowego.

#### Skład odczynnika

NCL-L-Ki67-MM1 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zakonserwowanym azydkiem sodu.

#### Klasa Ig

IgG1

#### Całkowite stężenie białka Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 84 mg/l. Stężenie Ig w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

**Ciepłe odmaskowywanie epitopu (HIER):** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania załączoną do roztworu Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Sugerowane rozcieńczenie:** 1:200 przez 30 minut w temperaturze 25°C. Te informacje stanowią jedynie wskazówkę – użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

**Wizualizacja:** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania dołączonej do Novolink™ Polymer Detection Systems. W celu uzyskania dodatkowych informacji o produkcie lub dalszej pomocy należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Działanie tego przeciwciała należy zweryfikować podczas używania z innymi ręcznymi metodami barwienia lub platformami automatycznymi.

#### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie zamrażać. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8 °C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie fiołki. Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika.

#### Przygotowanie próbek

Zalecanym utrwalaczem jest 10-procentowa obojętna buforowana formalina do zatopionych w parafinie skrawków tkankowych.

#### Ostrzeżenia i środki ostrożności

Odczynnik został przygotowany z supernatantu hodowli tkankowej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas jego używania należy zachować odpowiednie środki ostrożności.

Ten odczynnik zawiera azydek sodu. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie lub dostępna na stronie [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.

Próbki przed i po utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności.<sup>1</sup> Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników

ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza. Chronić odczynniki przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego. Zastosowanie okresów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

### **Kontrola jakości**

Różnice w przetwarzaniu tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą doprowadzić do znacznej zmienności wyników, co oznacza konieczność dodatkowego przeprowadzania regularnych kontroli wewnętrznych.

Kontrole należy przeprowadzać jak najszybciej na świeżych próbkach z autopsji/biopsji/operacji chirurgicznej utrwalonych, przetworzonych i zatopionych w parafinie, taką samą metodą, jaką badane są pobrane tkanki.

### **Tkankowa kontrola pozytywna**

Stosowana w celu wskazania prawidłowo przygotowanych tkanek i prawidłowych technik barwienia.

W każdej serii barwienia każdy zestaw warunków testowych powinien uwzględniać jedną tkankową kontrolę pozytywną.

Do optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej nadaje się tkanka o słabym barwieniu pozytywnym niż tkanka o silnym barwieniu pozytywnym.<sup>2</sup>

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować migdałek.

Jeśli tkankowa kontrola pozytywna nie wykaże odpowiedniego barwienia pozytywnego, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

### **Tkankowa kontrola negatywna**

Należy ją wykonać po tkankowej kontroli pozytywnej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygeny przez przeciwciała pierwszorzędowe.

Tkankowa kontrola negatywna powinna obejmować mózdzek.

Ewentualnie tkankowa kontrola negatywna może obejmować różne typy komórek obecne w większości skrawków tkankowych, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Barwienie niespecyficzne, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utrwalonego w formalinie można również zaobserwować sporadyczne barwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieuszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują barwienie niespecyficzne.<sup>3</sup> Wyniki fałszywie pozytywne mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub występowania produktów reakcji substratów. Mogą być również spowodowane przez endogenne enzymy, takie jak pseudoperoxydaza (erytrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna biotylna (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta mogą być barwione wyłącznie substratem chromogenem lub kompleksem enzymatycznym (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenem. Jeśli w trakcie tkankowej kontroli negatywnej nastąpi barwienie specyficzne, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

### **Negatywna kontrola odczynnika**

Aby przeprowadzić ocenę barwienia niespecyficznego oraz umożliwić lepszą interpretację barwienia specyficznego na każdym skrawku z próbki pobranej od pacjenta należy przeprowadzić nieswoistą kontrolę negatywną odczynnika w miejscu wiązania przeciwciała pierwszorzędowego.

### **Tkanka pacjenta**

Próbki pacjenta wybarwione testem NCL-L-Ki67-MM1 należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego barwienia niespecyficznego tła w negatywnej kontroli odczynnika. Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, co jednak nie oznacza, że jest on nieobecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności do identyfikacji reakcji fałszywie negatywnych należy wykorzystać panel przeciwciał.

### **Oczekiwane wyniki**

#### Tkanki prawidłowe

Klon MM1 wykrył antygen Ki67 w jądrze naciekających limfocytów w ocenianych 11/44 prawidłowych przypadkach, w tym komórkach naciekających w kryptach jelita krętego, jelita ślepego, jelita grubego i odbytnicy, komórkach naciekających w obrębie węzłów chłonnych, grasicy, w komórkach przypodstawnych i ponadpodstawnych języka, elementach komórek nabłonka i zrębu endometrium, elementach ośrodka rozmnazania w migdałkach, elementach komórek przewodowych sutka oraz pojedynczych komórkach przypodstawnych i ponadpodstawnych warstw przyłyku. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 44).

#### Tkanki nowotworowe

Klon MM1 wybarwił 26/70 zbadane guzy, w tym guzy sutka (12/29, w tym 11/26 raków przewodowych, i 1/1 raka rdzeniastego), guzy płuc (3/4, w tym 2/2 raki niedrobnokomórkowe i 1/1 raka płaskonabłonkowego), guzy jajnika (2/4, w tym 2/2 torbielakogruczolakoraki), raka brodawkowatego tarczycy (0/2), guzy wątroby (1/4, w tym 1/1 raka przerzutowego), raki płaskonabłonkowe szyjki macicy (2/2), gruczolakoraki okrężnicy (2/2), raki nerwowokomórkowe (1/2), raka płaskonabłonkowego przyłyku (1/1), raka płaskonabłonkowego języka (1/2), guzy mózgu (0/2), gruczolakoraki żołądka (0/2), guzy tkanek miękkich (0/2) guzy przerzutowe nieznanego pochodzenia (0/2), nasieniaki jąder (0/2), gruczolakoraki odbytnicy (0/2), nowotwory skóry (0/2), raka płaskonabłonkowego krtani (0/1), atypowego rakowiaka grasicy (0/1). (Łączna liczba ocenionych przypadków raków = 70).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-Ki67-MM1 do oceny naciekania limfocytów w tkankach prawidłowych i nowotworowych.**

### **Ograniczenia ogólne**

Badanie immunohistochemiczne to wieloetapowy proces diagnostyczny, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników i tkanek, utrwalania i przetwarzania tkanek, przygotowywania preparatów immunohistochemicznych oraz interpretacji wyników barwienia.

Barwienie tkanek zależy od postępowania z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, ścinanie skrawków lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub wyniki fałszywie negatywne. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i zatapania lub nieprawidłowości związanej z tkanką<sup>4</sup>

Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może negatywnie wpływać na właściwą interpretację wyników.

Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do badania skrawków zamrożonych lub zatopionych w parafinie, które utrwalono zgodnie z określonymi wymogami. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygeny, szczególnie w przypadku nowotworów. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę przeprowadzoną w ramach odpowiednich kontroli.

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. American Journal of Pathology. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. Journal of Pathology. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. American Journal of Pathology. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. Plastic and Reconstructive Surgery. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. Journal of Pathology. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. Antigen Retrieval Techniques. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. Advances in Experimental Medical Biology. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. Molecular Pathology 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. Journal of Pathology. 1996; 180:395–399.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

Stężenie przeciwciał.

## Data publikacji

05 grudnia 2018

# Tekoče mišje monoklonsko protitelo Novocastra™

## Ki67 Antigen

### Koda izdelka: NCL-L-Ki67-MM1

#### Predvidena uporaba

Za *diagnostično uporabo in vitro*.

Izdelek NCL-L-Ki67-MM1 je namenjen za kvalitativno identifikacijo molekul antigena Ki67 v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

#### Načelo postopka

Imunohistokemijske (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z izvajanjem zaporednega nanosa - z vmesnimi koraki izpiranja - specifičnega protitelesa na antigen (primarno protitelo), sekundarnega protitelesa na primarno protitelo in encimskega kompleksa s kromogenim substratom. Encimska aktivacija kromogena povzroči vidno reakcijo izdelka na mestu antigena. Tak vzorec lahko nato nasprotno barvamo in pokrijemo s kromnim stekelcem. Rezultate nato obdelamo s pomočjo svetlobnega mikroskopa in jih uporabimo pri diferencialni diagnozi patološko-fizioloških procesov, ki so morda povezani z določenim antigenom ali pa tudi ne.

#### Klon

MM1

#### Imunogen

Prokarionski rekombinantni fuzijski protein, ki ustreza fragmentu cDNA s 1086 bp dolgim motivom Ki67.

#### Specifičnost

Humani jedrni antigen Ki67, izražen v vseh proliferativnih celicah v pozni fazi G1, S, M in G2 celičnega cikla.

#### Sestava reagenta

NCL-L-Ki67-MM1 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje natrijev azid kot konzervans.

#### Razred Ig

IgG1

#### Skupna koncentracija beljakovin Total Protein

Skupna koncentracija beljakovin v določeni seriji je navedena na oznaki na viali.

#### Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 84 mg/l. Glejte oznako na viali za koncentracijo Ig določene serije.

#### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

**Toplotno pridobivanje epitopa (HIER):** Upošteвайте navodila za uporabo raztopine za pridobivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Predlagano redčenje:** 1 : 200, 30 minut pri 25 °C. To so samo smernice; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne razredčene.

**Vizualizacija:** Upošteвайте navodila za uporabo sistemov za zaznavanje polimerov Novolink™ Polymer Detection Systems. Za dodatne informacije o izdelku ali podporo se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems, lahko pa tudi obiščete spletno mesto družbe Leica Biosystems na naslovu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Učinkovitost tega protitelesa je treba validirati, kadar ga uporabljate z drugimi sistemi za ročno barvanje ali avtomatiziranimi okolji.

#### Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki na viali. Uporabnik naj preveri pogoje shranjevanja, ki se razlikujejo od zgoraj navedenih.

#### Priprava vzorcev

Priporočena fiksna raztopina je 10-% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, vstavljene v parafin.

#### Opozorila in previdnostni ukrepi

Vir priprave tega reagenta je supernatant celične kulture. Ker je to biološki izdelek, je treba z njim ravnati z ustrežno skrbnostjo. Ta reagent vsebuje natrijev azid. Varnostni list je na voljo na zahtevo ali na naslovu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Upošteвайте zvezne, državne ali lokalne predpise za odstranjevanje vseh morebitnih strupenih sestavin.

Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim ukrepom.<sup>1</sup> Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo in sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

Pazite, da ne pride do mikrobnih okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.

Če uporabite čas ali temperature inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

## Kontrola kakovosti

Razlike pri obdelavi tkiva in tehničnih postopkih v laboratoriju uporabnika lahko vodijo do precejšnje variabilnosti rezultatov, kar zahteva redne interne kontrole učinkovitosti poleg spodaj navedenih postopkov.

Kontrolni vzorci morajo biti sveži vzorci, pridobljeni z obdukcijo/biopsijo/kirurškim posegom, fiksirani s formalinom, obdelani in shranjeni v parafinskem vosku kakor hitro je mogoče ter na isti način, kot vzorci bolnikov.

## Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

Uporabite jih za opredelitev pravilno pripravljenih tkiv in ustreznih tehnik barvanja.

Pri vsakem postopku barvanja morate vsakemu sklopu preizkusnih pogojev dodati en pozitiven kontrolni vzorec tkiva.

Za kar najboljšo kontrolo kakovosti in boljše zaznavanje manjših stopenj razkroja reagenta je bolj primerno uporabiti tkivo s šibkim pozitivnim obarvanjem kot tkivo z močnim pozitivnim obarvanjem.<sup>2</sup>

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo tonzil.

Če pozitivni kontrolni vzorci tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, morate rezultate preizkusnih vzorcev zavreči kot neveljavne.

## Negativni kontrolni vzorci tkiva

Pregledate jih morate po pregledu pozitivnih kontrolnih vzorcev tkiva, da preverite specifičnost oznake ciljnega antigena glede na primarno protiteleso.

Za negativni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo malih možganov.

Drugače pa se kot negativni kontrolni vzorci pogosto uporablja vrsta različnih celic, ki so prisotne v večini rezin tkiv, vendar pa mora tako uporabo preveriti uporabnik.

Nespecifično barvanje, če je prisotno, je običajno razpršeno. Opazite lahko tudi posamično obarvanje vezivnega tkiva v rezinah tkiv, kot posledica premočnega fiksiranja s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nespremenjene celice. Obarvanje nekrotičnih ali degeneriranih celic je pogosto nespecifično.<sup>3</sup> Lažno pozitivni rezultati se lahko pojavijo zaradi ne-immunološke vezave proteinov ali produktov reakcije substrata. Povzročijo jih lahko tudi endogeni encimi, kot so psevdoperoksidaza (eritrociti), endogena peroksidaza (citokromni C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvila. Za razlikovanje med endogeno aktivnostjo encimov ali nespecifično vezavo encimov zaradi specifične imunske reaktivnosti, lahko barvate dodatna tkiva bolnika izključno ali s kromogenim substratom ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) in kromogenim substratom. Če pride do specifičnega obarvanja negativnih kontrolnih vzorcev tkiva, morate rezultate vzorcev bolnika zavreči kot neveljavne.

## Negativni kontrolni reagent

Za oceno nespecifičnega barvanja in boljšo razlago specifičnega obarvanja na antigenem mestu uporabite nespecifični negativni kontrolni reagent namesto primarnega protitelesa z eno rezino vsakega vzorca bolnika.

## Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-Ki67-MM1. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa odsotnosti antigena v testiranih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite nabor protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon MM1 je zaznal antigen Ki67 v jedru proliferativnih celic pri 11/44 normalmalnih ocenjenih primerov, vključno s proliferativnimi celicami v kriptah ileuma, cekuma, kolona in rektuma, proliferativnimi celicami v bezgavkah, priželjcu, parila in suprabazalnimi celicami jezika, epiteljskimi in stromalnimi celicami pro-endometrija, germinalnimi središči tonzil, duktalnimi celicami dojk in občasno s celicami supra in parabazalnih plasti požiralnika. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 44).

### Nenormalna tkiva

Klon MM1 je obarval 26/70 ocenjenih tumorjev, vključno s tumorji dojke (12/29, vključno z 11/26 duktalnih karcinomov in 1/1 medularnega karcinoma), pljučne tumorje (3/4, vključno z 2/2 nedrobnoceličnih karcinomov in 1/1 ploščatoceličnega karcinoma), tumorje jajčnikov (2/4, vključno z 2/2 cistadenokarcinomov), papilarne karcinome ščitnice (1/4), jetrne tumorje (1/4, vključno z 1/1 metastatskega karcinoma), ploščatocelične karcinome materničnega vratu (2/2), adenokarcinome kolona (2/2), karcinome ledvičnih celic (1/2), ploščatocelične karcinome požiralnika (1/1), ploščatocelične karcinome jezika (1/2), možganske tumorje (0/2), adenokarcinome želodca (0/2), tumorje mehkih tkiv (0/2), metastatske tumorje neznanega izvora (0/2), testikularne seminome (0/2), adenokarcinome rektuma (0/2), kožne tumorje (0/2), ploščatocelični karcinom grla (0/1) in netipični karcinoidni tumor priželjca (0/1). (Skupno število ocenjenih primerov s tumorji = 70).

### Izdelek NCL-L-Ki67-MM1 se priporoča za oceno proliferacije celic v normalnih in neoplastičnih tkivih.

## Splošne omejitve

Imunohistokemija je diagnostični postopek z več koraki, ki zahteva specializirano usposabljanje za izbiro ustreznih reagentov, izbiro, fiksiranje in obdelavo tkiv, pripravo IHC preparata in razlago rezultatov obarvanja.

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegovo obdelavo pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odtajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzročijo nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali lažne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega.<sup>4</sup> Prekomerno ali nepopolno nasprotno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno tolmačenje rezultatov.

Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Protitelesa družbe Leica Biosystems Newcastle Ltd so namenjena uporabi, kot je navedeno, na zamrznjenih ali v parafin vstavljenih rezinah z določenimi zahtevami za fiksiranje. Lahko pride do nepričakovanega izražanja antigena, zlasti pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.

## Splošna literatura

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretto G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji

Koncentracija protiteles.

## Datum izdaje

05 december 2018



# Novocastra™ Tekutá myší monoklonální protilátka

## Ki67 Antigen

### Kód výrobku: NCL-L-Ki67-MM1

#### Zamýšlené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-Ki67-MM1 je určena ke kvalitativnímu stanovení molekul antigenu Ki67 světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

#### Princip metody

Imunohistochemické (IHC) barvicí techniky umožňují vizualizaci antigenů pomocí sekvenční aplikace specifické protilátky proti antigenu (primární protilátka), sekundární protilátky proti primární protilátce a enzymového komplexu s chromogenním substrátem s interponovanými omývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu má za následek viditelnou reakci produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně nabarven a překryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují ve světlém mikroskopu; jsou pomůckou v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí, souviset s příslušným antigenem.

#### Klon

MM1

#### Imunogen

Prokaryotický rekombinantní fúzní protein odpovídající fragmentu cDNA obsahující motiv 1086 bp Ki67.

#### Specifita

Lidský nukleární antigen Ki67 exprimovaný u všech proliferujících buněk během pozdních fází G1, S, M a G2 buněčného cyklu.

#### Složení reagentie

NCL-L-Ki67-MM1 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

#### Třída Ig

IgG1

#### Koncentrace celkového proteinu Total Protein

Koncentrace celkového proteinu specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

#### Koncentrace protilátek

84 mg/l nebo vyšší. Koncentrace imunoglobulinu (Ig) specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

#### Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

**Teplem indukované odmaskování epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Postupujte podle pokynů k použití k roztoku Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Doporučené ředění:** 1:200 po dobu 30 minut při 25 °C. Toto doporučení je uvedeno jako vodítko; uživatelé musí stanovit vlastní optimální pracovní ředění.

**Vizualizace:** Postupujte podle návodu k použití k systémům Novolink™ Polymer Detection Systems. Pro více informací či doporučení kontaktujte vaši lokální nebo regionální kancelář Leica Biosystems nebo navštivte webové stránky Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Výkon této protilátky je třeba validovat, pokud se používá s jinými systémy pro ruční barvení nebo na automatických platformách.

#### Skladování a stabilita

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte. Okamžitě po použití vraťte do teploty 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku na lahvičce. Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel validovat.

#### Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro řezy tkáně zalité v parafinu je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

#### Varování a bezpečnostní opatření

Tato reagentie byla připravena ze supernatantu z buněčné kultury. Protože jde o biologický produkt, je nutno manipulaci s ní věnovat náležitou pozornost.

Tato reagentie obsahuje azid sodný. Bezpečnostní list materiálu je k dispozici na požádání nebo je dostupný na webu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.

Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály jim vystavenými, je nutno zacházet, jako by mohly způsobit přenos infekce, a likvidovat je s náležitými bezpečnostními opatřeními. Reagentie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagentií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagentie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagentií, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.

Inkubační doby nebo teploty jiné než předepsané mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

## Kontrola jakosti

Rozdíly ve zpracování tkání a v technických postupech v laboratoři uživatele mohou způsobit významnou variabilitu výsledků, což vyžaduje kromě níže uvedených postupů i pravidelné provádění kontrol v laboratoři.

Kontroly musí být čerstvé pitevni/bioptické/operační vzorky co nejdříve fixované formálním, zpracované a zalité do parafinového vosku, stejným způsobem jako vzorek/vzorky pacienta.

## Positivní tkáňová kontrola

Používá se k průkazu správně připravených tkání a správných barvicích technik.

V každém barvicím cyklu musí být použita jedna pozitivní tkáňová kontrola pro každý soubor testovacích podmínek.

Pro optimální kontrolu jakosti a k detekci menšího stupně degradace reagenzie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.<sup>2</sup>

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je tonzila.

Pokud pozitivní tkáňová kontrola nevykazuje pozitivní barvení, musí být výsledky testovaných vzorků považovány za neplatné.

## Negativní tkáňová kontrola

Musi být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specificity označení cílového antigenu primární protilátkou.

Doporučená negativní tkáňová kontrola je mozeček.

Alternativně často představuje místa negativní kontroly řada různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů, to ale musí uživatel validovat.

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálním může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.<sup>3</sup> Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem imunologické vazby proteinů nebo produktů reálného substrátu. Mohou být také způsobeny endogenními enzymy, jako je např. pseudoperoxidáza (erythrocyty), endogenní peroxidáza (cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarviva. K odlišení aktivity endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáňové pacienta vylučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

## Negativní reagenční kontrola

K vyhodnocení nespecifického barvení a umožnění lepší interpretace specifického barvení v místě antigenu použijte na řezu z každého vzorku pacienta nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky.

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-Ki67-MM1. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon MM1 detekoval antigen Ki67 v jádrech proliferujících buněk v 11/44 normálních hodnocených případech, včetně proliferujících buněk krypt ilea, céka, tlustého střeva a rekta, proliferujících buněk lymfatických uzlin, brzlíku, para a suprabazálních buněk jazyka, epitelálních buněk a částic stromálních buněk proendometria, částic germinálních center tonzil, částic dukálních buněk prsu a občasných buněk supra a parabazálních vrstev jícnu. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 44).

### Abnormální tkáň

Klon MM1 obarvil 26/70 hodnocených nádorů, včetně nádorů prsu (12/29, včetně 11/26 dukálních karcinomů a 1/1 medulárního karcinomu), nádory plic (3/4, včetně 2/2 nemalobuněčných karcinomů a 1/1 dlaždicobuněčného karcinomu), nádory vaječníku (2/4, včetně 2/2 cystadenokarcinomů), thyroideálních papilárních karcinomů (1/4), nádorů jater (1/4, včetně 1/1 metastatického karcinomu), dlaždicobuněčných karcinomů děložního hrdla (2/2), adenokarcinomů tlustého střeva (2/2), karcinomů renálních buněk (1/2), dlaždicobuněčného karcinomu jícnu (1/1), dlaždicobuněčných karcinomů jazyka (1/2), nádorů mozku (0/2), adenokarcinomů žaludku (0/2), nádorů měkkých tkání (0/2), metastatických nádorů neznámého původu (0/2), testikulárních seminomů (0/2), adenokarcinomů rekta (0/2), nádorů kůže (0/2), dlaždicobuněčného karcinomu hrtanu (0/1), atypického karcinoidního nádoru brzlíku (0/1). (Celkový počet vyšetřovaných nádorů = 70).

**NCL-L-Ki67-MM1 se doporučuje k hodnocení buněčné proliferace u normálních a neoplastických tkání.**

## Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je vícekrokový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagenzií; výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě imunohistochemického sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení. Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití v konzervačním médiu, nebo přirozených odchylek ve tkáni.<sup>4</sup>

Nadměrně nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfoloogickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Protilátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají, jak bylo uvedeno, u zmrazených nebo u parafinových řezů ze specifickými požadavky na fixaci. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoliv barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfoloogickou analýzu a zhodnocení příslušných kontrol.

## Literatura - všeobecná

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## Opravy předchozího vydání

Koncentrace protilátek

## Datum vydání

05 prosinec 2018

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

## Ki67 Antigen

### Kód produktu: NCL-L-Ki67-MM1

#### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-Ki67-MM1 slúži na kvalitatívnu identifikáciu molekúl antigénu Ki67 v parafínových rezoch pomocou svetelnej mikroskopie. Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

#### Princíp postupu

Techniky imunohistochemického (IHC) zafarbenia umožňujú vizualizáciu antigénov sekvenčnou aplikáciou špecifickej protilátky proti antigénu (primárna protilátka), sekundárnej protilátky proti primárnej protilátke a enzymatického komplexu s chromogénnym substrátom. Medzi jednotlivými krokmi prebieha premývanie. Enzymatická aktivácia chromogénu vytvára v mieste antigénu viditeľné produkty reakcie. Môžete doplniť kontrastné zafarbenie vzorky a zakryť ju krycím sklíčkom. Výsledky sa interpretujú pomocou svetelného mikroskopu a napomáhajú pri diferenciálnej diagnostike patofyziologických procesov, ktoré môžu, ale nemusia byť spojené s určitým antigénom.

#### Klon

MM1

#### Imunogén

Prokaryotický rekombinantný fúzný proteín zodpovedajúci fragmentu cDNA obsahujúceho motív 1086 bp Ki67.

#### Špecificita

Ludský nukleárny antigén Ki67 exprimovaný vo všetkých proliferujúcich bunkách počas neskorých fáz G1, S, M a G2 bunkového cyklu.

#### Zloženie činidla

NCL-L-Ki67-MM1 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

#### Trieda Ig

IgG1

#### Celková koncentrácia proteínov Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifických pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

Väčšia alebo rovná 84 mg/l. Koncentráciu Ig špecifických pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

**Záchyt epitopov s tepelnou indukciou (HIER):** Postupujte podľa návodu na použitie systému Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Odporúčané riedenie:** 1 : 200 po dobu 30 minút pri teplote 25 °C. Táto hodnota je orientačná, používatelia si musia stanoviť svoje vlastné optimálne pracovné riedenia.

**Vizualizácia:** Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink™ Polymer Detection Systems. Ďalšie informácie o produkte alebo podporu vám poskytnie váš miestny distribútor alebo lokálne zastúpenie spoločnosti Leica Biosystems. Takisto môžete navštíviť internetové stránky spoločnosti Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)  
Funkčnosť tejto protilátky je nutné validovať pri použití s inými manuálnymi systémami farbenia alebo automatizovanými platformami.

#### Uskladnenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nezmrazujte. Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku fľaštičky. Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom.

#### Príprava vzorky

Odporúčaný fixačný prípravok je 10 % neutrálny pufovaný formalín pre bločky tkaniva zaliate do parafínu.

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

Toto činidlo bolo pripravené zo supernatantu bunkovej kultúry. Keďže ide o biologický produkt, pri manipulácii je nutné vynaložiť zodpovedajúcu starostlivosť.

Toto činidlo obsahuje azid sodný. Materiálový bezpečnostný list je k dispozícii na požiadanie alebo na stránkach [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.

So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení.<sup>1</sup> Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhladajte lekársku pomoc.

Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V očnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.

Nedodržanie predpísaných inkubačných dób alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

## Kontrola kvality

Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môžu viesť k významnému kolísaniu výsledkov, čo si vyžaduje, okrem nasledujúcich postupov, aj pravidelné interné kontroly. Kontroly by mali byť čerstvé pitevne/bioptické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formalínom a spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

## Pozitívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia.

Každá súprava testových podmienok v každom cykle zafarbenia musí obsahovať jednu pozitívnu kontrolu tkanivom.

Tkanivo so slabým pozitívnym farbením je pre optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.<sup>2</sup>

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je tonzila.

Ak pozitívna kontrola tkanivom nebude vykazovať pozitívne zafarbenie, výsledky testovaných vzoriek je nutné považovať za neplatné.

## Negatívna kontrola tkanivom

Nutné vyšetriť po pozitívnej kontrole tkanivom s cieľom overiť špecificitu značenia cieľového antigénu primárnou protilátkou.

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu je mozoček.

Ako negatívnu kontrolu je možné použiť aj rôzne typy buniek prítomné vo väčšine tkanivových rezov, takýto postup si však vyžaduje validáciu používateľom.

Prípadné nešpecifické farbenie má obvykle difúzny vzhľad. V rezoch tkanív silne fixovaných formalínom môže byť pozorované sporadické farbenie spojiva. Na interpretáciu výsledkov farbenia používajte intaktné bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbja nešpecificky.<sup>3</sup> Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj endogénnymi enzýmami, ako napr. pseudoperoxidázou (erytrocyty), endogénnou peroxidázou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. peččeň, prsník, mozog, oblička) v závislosti od typu imunologického farbenia. S cieľom diferencovať endogénnu enzymatickú aktivitu alebo nešpecifickú väzbu enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžete nafarbiť ďalšie vzorky tkanív pacienta výhradne substrátovým chromogénom alebo enzymatickými komplexmi (avidín-biotín, streptavidín, značený polymér), resp. substrátovým chromogénom. V prípade špecifického farbenia v negatívnej kontrole tkanivom je nutné výsledky vzoriek pacienta považovať za neplatné.

## Negatívna kontrola činidlom

Na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia použite nešpecifickú negatívnu kontrolu činidlom miesto primárnej protilátky s rezom jednotlivých vzoriek pacienta, čo umožní lepšiu interpretáciu špecifického farbenia na mieste antigénu.

## Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené prípravkom NCL-L-Ki67-MM1 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly činidlom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testoch znamená negatívny výsledok, že antigén nebol detegovaný. Nepotvrzuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikuje falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon MM1 detegoval antigén Ki67 v jadre proliferujúcich buniek v 11/44 normálnych hodnotených prípadoch vrátane proliferujúcich buniek v kryptách ilea, slepého čreva, hrubého čreva a konečníka, proliferujúcich buniek v lymfatických uzlinách, týmuse, parabazálnych a suprabazálnych buniek jazyka, prvkov epitelových a stromálnych buniek pro-endometria, prvkov zárodočných centier tonzíl, prvkov duktálnych buniek prsníka a priležitostných buniek v suprabazálnych a parabazálnych vrstvách pažeráka. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 44).

### Abnormálne tkanivá

Klon MM1 zafarbil 26/70 hodnotených nádorov vrátane nádorov prsníka (12/29, vrátane 11/26 duktálnych karcinómov a 1/1 medulárnych karcinómov), nádorov pľúc (3/4, vrátane 2/2 nemalobunkových karcinómov a 1/1 skvamocelulárneho karcinómu), nádorov vaječníkov (2/4, vrátane 2/2 cystadenokarcinómov), papilárnych karcinómov štítnej žľazy (1/4), nádorov pečene (1/4, vrátane 1/1 metastatického karcinómu), skvamocelulárnych karcinómov krčka maternice (2/2), adenokarcinómov hrubého čreva (2/2), karcinómov renálnych buniek (1/2), skvamocelulárnych karcinómov pažeráka (1/1), skvamocelulárnych karcinómov jazyka (1/2), nádorov mozgu (0/2), adenokarcinómov žalúdka (0/2), nádorov mäkkých tkanív (0/2), metastatických nádorov neznámeho pôvodu (0/2), seminómov semenníkov (0/2), adenokarcinómov konečníka (0/2), nádorov kože (0/2), skvamocelulárneho karcinómu hrtana (0/1), atypického karcinoidného nádoru týmusu (0/1). (Celkový počet vyšetrených nádorov = 70).

### NCL-L-Ki67-MM1 sa odporúča na vyhodnotenie proliferácie buniek v normálnych a neoplastických tkanivách.

## Všeobecné limitácie

Imunohistochemia je diagnostický postup pozostávajúci z viacerých krokov, ktorý si vyžaduje špecializované zaškolenie vo výbere zodpovedajúcich činidiel, výbere tkanív, fixácie a spracovania, príprave IHC sklíčka a interpretácii výsledkov farbenia.

Farbenie tkaniva závisí od manipulácie s tkanivom a od jeho spracovania pred farbením. Nesprávna fixácia,

zmrazovanie, rozmrazovanie, premývanie, sušenie, ohrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami či tekutinami môžu viesť k vzniku artefaktov, záhytu protilátok alebo falošne negatívnym výsledkom. Inkonzistentné výsledky môžu byť spôsobené zmenami metód fixácie a montáže preparátov alebo inherentnými nepravidłosťami v tkanive.<sup>4</sup>

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Protílátky spoločnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd sú určené na použitie na zmrazených rezoch alebo rezoch zaliatych parafínom so špecifickými požiadavkami na fixáciu, ako uvádza tento dokument. Najmä pri neopláziách môže dôjsť k nečakanej expresii antigénov. Klinická interpretácia akýchkoľvek farbených tkanivových rezov musí zahŕňať morfológickú analýzu a vyhodnotenie zodpovedajúcich kontrol.

## **Bibliografia – všeobecne**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Corpechot C, Barbu V, Wendum D et al. Hepatocyte growth factor and c-met inhibition by hepatic cell hypoxia. A potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160(2):613–620.
6. Suzuki A, Masuda A, Nagata H et al. Mature dendritic cells make clusters with T-cells in the invasive margin of colorectal carcinoma. *Journal of Pathology*. 2002; 196:37–43.
7. Crosier M, Scott D, Wilson RG et al. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 2001; 159(1):215–221.
8. Noszczyk, B.H and S.T. Majewski. p63 expression during normal cutaneous wound healing in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001; 108:1242–1247.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2067–2077.
10. Fernández-Figueras MT, Puig L, Penín RM et al. Decreased immunoreactivity for cell-cycle regulator p27 Kip1 in Kaposi's sarcoma correlates with higher stage and extracutaneous involvement. *Journal of Pathology*. 2000; 191:387–393.
11. Cattoretti G and Fei Q. Application of the antigen retrieval technique in experimental pathology: from human to mouse. *Antigen Retrieval Techniques*. 2000; 165–179. Eds. Shi S-R, Gu J and Taylor CR. Eaton Publishing.
12. Ball LM, Lannon CL, Yhap M et al. PCNA bearing structures are retained in apoptotic phase of childhood ALL cell cycle. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):289–296.
13. Ball LM, Pyesmany AF, Yhap M et al. Apoptosis corrected proliferation fraction in childhood ALL is related to karyotype. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):297–303.
14. Pyesmany AF, Ball LM, Yhap M et al. Proliferation and apoptosis does not affect presenting white cell count in childhood ALL. *Advances in Experimental Medical Biology*. 1999; 457(HD):305–312.
15. Torp SH. Proliferative activity in human glioblastomas: evaluation of different Ki67 equivalent antibodies. *Molecular Pathology* 1997; 50(4): 198-200.
16. Mate JL, Ariza A, Aracil C et al. Cyclin D1 overexpression in non-small cell lung carcinoma: correlation with Ki67 labelling index and poor cytoplasmic differentiation. *Journal of Pathology*. 1996; 180:395–399.

## **Úpravy predchádzajúceho vydania**

Koncentrácia protílátok.

## **Dátum vydania**

05 December 2018



Leica Biosystems Newcastle Ltd   
Balliol Business Park West  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242

Leica Biosystems Canada  
71 Four Valley Drive  
Concord, Ontario L4K 4V8  
Canada  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc  
1700 Leider Lane  
Buffalo Grove IL 60089  
USA  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne  
Pty Ltd  
495 Blackburn Road  
Mt Waverley VIC 3149  
Australia  
☎ +61 2 8870 3500