

Novocastra Liquid Rabbit Monoclonal Antibody

Product Code: NCL-L-S100-167

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
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

Var 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.

Verificați 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 Rabbit Monoclonal Antibody S-100 (EP32)

Product Code: NCL-L-S100-167

Intended Use

For in vitro diagnostic use.

NCL-L-S100-167 is intended for the qualitative identification by light microscopy of S-100B protein 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

EP32

Immunogen

A synthetic peptide corresponding to residues of human S100 Beta protein.

Specificity

Human.

Reagent Composition

NCL-L-S100-167 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

Ig Class

Rabbit IgG

Total Protein Concentration Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 30 mg/L as determined by ELISA. 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: 1:100 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

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. 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 degradation²

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 skeletal muscle fibres.

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-specifically³ 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-S100-167 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 EP32 detects S-100 protein in the nucleus and cytoplasm of cells of neuroectodermal origin in a variety of tissues.

Immunoreactivity was observed in nerve fibres, dendritic cells, adipocytes and a percentage of macrophages, lymphocytes and plasma cells.

Staining was also observed in parenchymal cells in the cerebrum and cerebellum, islets of Langerhans in pancreas, myoepithelial cells of salivary glands, retinal cells of the eye and myoepithelial and ductal cells of the breast. (Total number of normal cases = 117)

Abnormal Tissues

Clone EP32 stained 20/42 peripheral nerve tumours (including 10/12 malignant Schwannomas, 4/4 ganglioneuromas, 3/21 malignant peripheral nerve sheath tumours, 3/4 neurofibromas and 0/1 primitive neuroectodermal tumours), 9/11 malignant melanomas. No staining was detected in other various tumours including GI tract tumours (0/12), breast tumours (0/6), lung tumours (0/6), ovarian tumours (0/3), hepatocellular carcinomas (0/3), cervical tumours (0/3), endometrial tumours (0/3), bladder tumours (0/2), kidney clear cell carcinomas (0/2), prostate adenocarcinomas (0/1), prostate hyperplasia (0/1), and squamous cell carcinoma of the skin (0/1). (Total number of abnormal cases evaluated = 96)

S-100 (EP32) is recommended for the detection of S-100 B protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.

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 tissue⁴.

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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. *American Journal of Cancer Research* 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2015; 23(1):1-18

Amendments to Previous Issue

N/A

Date of Issue

01 July 2019

Anticorps monoclonal liquide de lapin Novocastra S-100 (EP32)

Référence du produit : NCL-L-S100-167

Utilisation conforme

Diagnostic in vitro.

NCL-L-S100-167 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la protéine S-100B dans les coupes en inclusion de 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 de l'anamnèse clinique 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 entraîne la formation d'un produit réactionnel visible au niveau du site antigénique. 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 aident à réaliser le diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, qui pourraient être associés ou non à un antigène particulier.

Clone

EP32

Immunogène

Un peptide de synthèse correspondant à des résidus de la protéine S100 Beta humaine.

Spécificité

Humain.

Composition du Réactif auxiliaire

Le NCL-L-S100-167 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azoture de sodium comme conservateur.

Classe Ig

IgG de lapin

Concentration totale en protéines Total Protein

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

Concentration en anticorps

Supérieure ou égale à 30 mg/L tel que déterminé par ELISA. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette.

Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

Récupération d'épitopes induite par la chaleur (Heat Induced Epitope Retrieval HIER): Suivez les instructions d'utilisation de la Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Dilution préconisée: 1:100 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 obtenir davantage d'informations sur le produit ou une assistance, veuillez contacter votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems. Vous pouvez également consulter le site Internet de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

[Les performances de cet anticorps doivent être validées lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuels ou plateformes automatisées.](#)

Conservation et stabilité

Stocker entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Remettre immédiatement entre 2 °C et 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 spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur.

Préparation des Spécimens

Le fixateur recommandé est le formol neutre tamponné à 10 % pour les coupes de tissus enrobés de 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'azoture de sodium. Une Fiche de données de sécurité est disponible sur demande ou sur le site www.LeicaBiosystems.com

Il convient de se renseigner sur les réglementations nationales, régionales ou locales en vigueur pour l'élimination de tout composant potentiellement toxique.

Les échantillons, avant et après la fixation, ainsi que tous les matériaux exposés à ces échantillons, doivent être traités comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions qui s'imposent¹. Ne jamais pipetter les réactifs à la bouche et veiller à éviter tout contact des réactifs et des échantillons 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. Demander conseil à un médecin. Minimiser la contamination microbienne des réactifs, faute de quoi un accroissement de la coloration non spécifique est susceptible de se produire.

Des durées ou températures d'incubation autres que celles précisées peuvent produire des résultats erronés. Toute modification de ces paramètres doit être validée par l'utilisateur.

Contrôle de Qualité

Des différences en matière de traitement des tissus et de procédures techniques au sein du laboratoire de l'utilisateur pourraient produire une variabilité importante des résultats, nécessitant la réalisation de contrôles internes réguliers 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

Utilisé pour indiquer la préparation correcte des tissus et les techniques de coloration adéquates.

Un tissu de contrôle positif doit être inclus pour chaque ensemble de conditions d'essai et pour chaque cycle de coloration.

Un tissu présentant une coloration positive faible convient mieux qu'un tissu présentant une coloration positive forte pour un contrôle de qualité optimal et afin de détecter de faibles niveaux de dégradation des réactifs².

Le tissu de contrôle positif recommandé est les amygdales.

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

Tissu de Contrôle Négatif

Doit être examiné après le tissu de contrôle positif afin de vérifier la spécificité de l'étiquetage de l'antigène cible par l'anticorps primaire.

Le tissu de contrôle négatif recommandé est des fibres musculaires squelettiques.

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.

En cas de coloration non spécifique, celle-ci a généralement une apparence diffuse. La coloration sporadique des tissus conjonctifs s'observe également dans les sections des tissus ayant subi une fixation au formol excessive. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées présentent généralement une coloration non spécifique³. Des résultats faussement positifs peuvent être provoqués par une liaison non immunologique de protéines ou de produits de réaction au substrat.

Ils peuvent également être dus à des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (par ex. foie, sein, cerveau, rein) selon le type d'immunocoloration utilisé. Pour différencier l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes d'une immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être colorés exclusivement à l'aide d'un substrat chromogène, ou de complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) avec un 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

Utilisez un réactif de contrôle négatif non spécifique au lieu de l'anticorps primaire avec une coupe de chaque échantillon du patient afin d'évaluer la coloration non spécifique et de permettre, et de permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique au niveau du site antigénique.

Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-S100-167 en dernier lieu. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée à la lumière de la coloration de fond non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour tout test immunohistochimique, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté et non que l'antigène n'était pas présent dans les cellules/le tissu évalué(es). Si nécessaire, utilisez un panel d'anticorps afin d'identifier les réactions faussement négatives.

Résultats attendus

Tissus normaux

Le Clone EP32 détecte la protéine S-100 dans le noyau et le cytoplasme des cellules d'origine neuroectodermique dans divers tissus. Une immunoréactivité a été observée dans les fibres nerveuses, les cellules dendritiques, les adipocytes et une certaine proportion des macrophages, lymphocytes et cellules plasmiques.

Une coloration a également été observée dans les cellules parenchymateuses dans le cerveau et le cervelet, les îlots de Langerhans dans le pancréas, les cellules myoépithéliales des glandes salivaires, les cellules rétinienne de l'œil et les cellules myoépithéliales et les cellules canalaire du sein. (Nombre total de cas normaux = 117).

Tissus anormaux

Le Clone EP32 a coloré 20/42 tumeurs du nerf périphérique (dont 10/12 Schwannomes malins, 4/4 ganglioneuromes, 3/21 tumeurs malignes de l'enveloppe du nerf périphérique, 3/4 neurofibromes et 0/1 tumeurs neuroectodermiques primitives), 9/11 mélanomes malins. Aucune coloration n'a été détectée dans diverses autres tumeurs, dont les tumeurs du tractus gastro-intestinal (0/12), tumeurs du sein (0/6), tumeurs du poumon (0/6), tumeurs des ovaires (0/3), carcinomes hépatocellulaires (0/3), tumeurs du col de l'utérus (0/3), tumeurs de l'endomètre (0/3), tumeurs de la vessie (0/2), carcinomes à cellules claires du rein (0/2), adénocarcinomes de la prostate (0/1), hyperplasie de la prostate (0/1) et carcinome à cellules squameuses de la peau (0/1). (Nombre total de cas anormaux évalués = 96)

S-100 (EP32) est recommandé pour la détection de la protéine S-100 dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.

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.

La coloration du tissu dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe incorrects ou une contamination avec d'autres tissus ou fluides risquent de produire un artefact, un piégeage de l'anticorps ou des résultats faussement négatifs. Des résultats non homogènes peuvent provenir de variations des méthodes de fixation et d'enrobage, ou d'irrégularités inhérentes au tissu⁴.

Une coloration de contraste excessive ou incomplète peut également compromettre 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 de l'anamnèse clinique du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Les anticorps de Leica Biosystems Newcastle Ltd sont destinés à être utilisés, comme indiqué, sur des coupes congelées ou enrobées de paraffine avec des exigences de fixation spécifiques. Une expression inattendue d'antigènes peut se produire, particulièrement dans les néoplasmes. L'interprétation clinique de toute coupe de tissus colorée doit comprendre une analyse morphologique et l'évaluation de mesures de contrôles adéquates.

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. 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. *American Journal of Cancer Research* 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2015; 23(1):1-18

Amendements Apportés à la Version Précédente

S/O

Date de publication

01 juillet 2019

Anticorpo Monoclonale di Coniglio Liquido Novocastra S-100 (EP32)

Codice prodotto: NCL-L-S100-167

Uso previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-S100-167 è destinato all'identificazione qualitativa al microscopio ottico della proteina S-100B in sezioni incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione o della sua assenza deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Principio della procedura

Le tecniche di colorazione immunostochimica (IHC) consentono la visualizzazione degli antigeni tramite l'applicazione sequenziale di un anticorpo specifico all'antigene (anticorpo primario), di un anticorpo secondario all'anticorpo primario, un complesso enzimatico con un substrato cromogeno con fasi di lavaggio interposte. L'attivazione enzimatica del cromogene causa la produzione di un prodotto di reazione visibile nel sito dell'antigene. Il campione può essere quindi contro colorato ed è possibile applicarvi un coprivetrino. I risultati vengono interpretati utilizzando un microscopio ottico e consentono la diagnosi differenziale dei processi patofisiologici, associabili o meno ad un antigene specifico.

Clone

EP32

Immunogeno

Si tratta di un peptide sintetico corrispondente ai residui della proteina umana S100 B.

Specificità

Umana.

Composizione del reagente

NCL-L-S100-167 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente sodio azide come conservante.

Classe Ig

IgG di coniglio.

Concentrazione proteica totale

Total Protein

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

Concentrazione anticorpale

Superiore o uguale a 30 mg/L, come determinato mediante test ELISA. Consultare l'etichetta del flaconcino per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

Consigli per l'uso

Immunostochimica su sezioni in paraffina.

Smascheramento termoindotto dell'epitopo (Heat Induced Epitope Retrieval HIER): Si raccomanda di seguire le istruzioni per l'uso di Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Diluizione consigliata: 1:100 per 30 minuti a 25 °C. Queste raccomandazioni costituiscono delle semplici linee guida; spetta al singolo utilizzatore stabilire le diluizioni di lavoro ottimali.

Visualizzazione: Seguire le istruzioni per l'uso contenute nei Novolink Polymer Detection Systems. Per ulteriori informazioni sul prodotto o supporto, rivolgersi al distributore di zona o all'ufficio regionale di Leica Biosystems. In alternativa, visitare il sito Web di Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

Quando questo anticorpo viene utilizzato con altri sistemi di colorazione manuale o piattaforme automatizzate, le prestazioni dell'anticorpo devono essere verificate.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C. Non congelare. Riportare a 2-8 °C immediatamente dopo l'uso. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del flaconcino.

L'utilizzatore deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate sopra.

Preparazione del campione

Il fissativo consigliato è la formalina neutra tamponata al 10% per sezioni di tessuto incluso in paraffina.

Avvertenze e precauzioni

Questo reagente è stato preparato dal supernatante di coltura cellulare. Si tratta di un prodotto biologico, pertanto manipolare con le dovute precauzioni.

Questo reagente contiene azoturo di sodio. Una scheda di sicurezza è disponibile su richiesta oppure sul sito www.LeicaBiosystems.com Consultare la normativa federale, statale o locale in materia di smaltimento di componenti potenzialmente tossici.

I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali a essi esposti, devono essere manipolati come potenziali vettori di infezioni e smaltiti con le dovute precauzioni¹. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la pelle e le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con aree sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.

Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare un aumento di colorazione aspecifica.

Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono fornire risultati erronei. Eventuali cambiamenti devono essere convalidati dall'utilizzatore.

Controllo della qualità

Differenze nella processazione dei tessuti e nelle procedure tecniche del laboratorio dell'utilizzatore possono produrre una variabilità significativa nei risultati, rendendo necessaria l'esecuzione regolare di controlli interni in aggiunta alle seguenti procedure.

I tessuti di controllo devono essere campioni autoptici/bioptici/chirurgici freschi, fissati in formalina, elaborati e inclusi in cera paraffina il prima possibile, così come i campioni del paziente.

Controllo positivo del tessuto

Utilizzato per indicare i tessuti preparati correttamente e le tecniche di colorazione adeguate.

È necessario includere un controllo positivo del tessuto per ciascuna serie di condizioni sperimentali in ogni sessione di colorazione.

Un tessuto con una colorazione positiva debole è più indicato di un tessuto con una colorazione positiva forte per effettuare un controllo ottimale della qualità e per rilevare livelli minori di degradazione del reagente².

Il tessuto raccomandato per il controllo positivo è la tonsilla

Se il controllo positivo del tessuto non mostra una colorazione positiva, i risultati ottenuti con i campioni da esaminare devono essere considerati non validi.

Controllo negativo del tessuto

Deve essere eseguito dopo il controllo positivo del tessuto per verificare la specificità dell'etichettatura dell'antigene bersaglio ad opera dell'anticorpo primario.

Il tessuto raccomandato per il controllo negativo sono le fibre muscolari scheletriche.

In alternativa, la varietà di tipi di cellule presenti nella maggior parte delle sezioni dei tessuti forniscono spesso siti di controllo negativi, che devono tuttavia essere verificati dall'utilizzatore.

La colorazione aspecifica, se presente, ha solitamente un aspetto diffuso. La colorazione sporadica di tessuti connettivi può inoltre essere osservata in sezioni provenienti da tessuti eccessivamente fissati in formalina. Utilizzare cellule intatte per l'interpretazione dei risultati della colorazione. Spesso le cellule necrotiche o degenerate si colorano in modo non specifico³. Risultati falsi-positivi possono essere osservati a causa di un legame non immunologico delle proteine o da prodotti di reazione del substrato.

Possono inoltre essere causati da enzimi endogeni quali pseudoperossidasi (eritrociti), perossidasi endogene (citocromo C) o biotina endogena (ad esempio fegato, mammella, cervello, rene) a seconda del tipo di immunocolorazione utilizzata. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame enzimatico aspecifico dall'immunoreattività specifica, ulteriori tessuti del paziente possono essere colorati rispettivamente con il substrato cromogeno o con complessi enzimatici (avidina-biotina, streptavidina, polimero marcato) e substrato-cromogeno. Qualora si verificasse una colorazione specifica nel controllo negativo del tessuto, i risultati ottenuti dai campioni del paziente non devono essere considerati validi.

Reagente di controllo negativo

Utilizzare un reagente di controllo negativo non specifico al posto dell'anticorpo primario con una sezione di ogni campione del paziente per valutare la colorazione aspecifica e consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica al sito dell'antigene.

Tessuto del paziente

I campioni del paziente colorati con NCL-L-S100-167 devono essere esaminati per ultimi. L'intensità della colorazione positiva dovrà essere valutata nel contesto di qualsiasi colorazione di fondo aspecifica del controllo negativo del reagente. Come in qualsiasi altro test immunostochimico, un risultato negativo indica che l'antigene non è stato rilevato, non che l'antigene è assente nelle cellule o nei tessuti esaminati. Se necessario, utilizzare un pannello di anticorpi per identificare le false reazioni negative.

Risultati attesi

Tessuti Normali

Il clone EP32 rileva la proteina S-100 nel nucleo e nel citoplasma delle cellule di origine neuroectodermica in una varietà di tessuti. È stata osservata immunoreattività nelle fibre nervose, nelle cellule dendritiche, negli adipociti e in una percentuale di macrofagi, linfociti e cellule plasmatiche.

È stata inoltre osservata colorazione nelle cellule parenchimali del cervello e del cervelletto, nelle isole di Langerhans del pancreas, nelle cellule mioepiteliali delle ghiandole salivari, nelle cellule retiniche dell'occhio e nelle cellule duttali della mammella. (Numero totale di casi normali = 117).

Tessuti anomali

Il clone EP32 ha colorato 20/42 tumori dei nervi periferici (compresi 10/12 schwannomi maligni, 4/4 ganglioneuromi, 3/21 tumori maligni delle guaine nervose periferiche, 3/4 neurofibromi e 0/1 tumore neuroectodermico primitivo), 9/11 melanomi maligni. Nessuna colorazione è stata rilevata in vari altri tumori tra cui tumori del tratto gastrointestinale (0/12), tumori della mammella (0/6), tumori del polmone (0/6), tumori ovarici (0/3), carcinomi epatocellulari (0/3), tumori della cervice (0/3), tumori dell'endometrio (0/3), tumori della vescica (0/2), carcinomi renali a cellule chiare (0/2), adenocarcinomi della prostata (0/1), iperplasia prostatica (0/1) e carcinoma della pelle a cellule squamose (0/1). (Numero totale di casi anomali valutati = 96).

L'uso di S-100 (EP32) è consigliato per il rilevamento della proteina S-100 B in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.

Limitazioni generali

L'immunostochimica è un processo diagnostico a fasi multiple che richiede una formazione specialistica per la scelta dei reagenti adeguati; per la scelta di tessuti, fissazione e trattamento; per la preparazione del vetrino IHC e l'interpretazione dei risultati della colorazione.

La colorazione del tessuto dipende dalla manipolazione e dal trattamento del tessuto precedenti alla colorazione. Fissazione errata, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, sezionamento o contaminazione con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, l'intrappolamento dell'anticorpo o risultati falsi negativi. Variazioni nel fissaggio e nei metodi di inclusione, come anche le irregolarità intrinseche del tessuto possono provocare risultati non uniformi*.

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

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione o della sua assenza deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Gli anticorpi di Leica Biosystems Newcastle Ltd devono essere utilizzati, come indicato, su sezioni congelate o incluse in paraffina con requisiti specifici di fissazione. Potrebbe verificarsi l'espressione inattesa dell'antigene, specialmente nei neoplasmi. L'interpretazione clinica di ogni sezione tissutale colorata va integrata da studi morfologici e dalla valutazione di controlli appropriati.

Bibliografia - Generale

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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Emendamenti alla precedente uscita

N/D

Data di pubblicazione

01 luglio 2019

Novocastra flüssiger monoklonaler Kaninchen-Antikörper S-100 (EP32)

Produkt-Nr.: NCL-L-S100-167

Verwendungszweck

Für In-vitro-Diagnostik.

NCL-L-S100-167 ist zur qualitativen lichtmikroskopischen Bestimmung des S-100B-Proteins in Paraffinschnitten vorgesehen. Die klinische Einordnung der Färbung bzw. ihres Fehlens sollte durch morphologische Untersuchungen samt entsprechenden Kontrollen abgerundet und unter Berücksichtigung der klinischen Vorgeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Verfahrensprinzip

Immunhistochemische (IHC) Färbemethoden ermöglichen die Visualisierung von Antigenen durch sequentielle Anwendung eines spezifischen Antikörpers auf das Antigen (Primärantikörper), eines Sekundärantikörpers auf den Primärantikörper und eines Enzymkomplexes mit einem chromogenen Substrat mit zwischengeschalteten Waschschritten. 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

EP32

Immunogen

Ein synthetisches Peptid, das Resten des humanen S100-Beta-Proteins entspricht.

Spezifität

Human.

Reagenzzusammensetzung

NCL-L-S100-167 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

Ig-Klasse

Kaninchen-IgG

Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Chargenspezifische Gesamtproteinkonzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 30 mg/L gemäß ELISA-Bestimmung. Chargenspezifische Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

Anwendungsempfehlungen

Immunhistochemie bei Paraffinschnitten.

Hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (Heat Induced Epitope Retrieval – HIER): Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 befolgen.

Empfohlene Verdünnung: 1:100 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 in den Novolink Polymer Detection Systems befolgen. Weitere Produktinformationen oder Support erhalten Sie von Ihrem lokalen Vertriebspartner oder der regionalen Niederlassung von Leica Biosystems oder alternativ auf der Leica Biosystems Website: www.LeicaBiosystems.com

Die Leistung dieses Antikörpers sollte unter Verwendung anderer manueller Färbesysteme oder automatischer Plattformen validiert werden.

Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach dem Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden.

Probenvorbereitung

Das empfohlene Fixiermittel ist 10%iges neutral gepuffertes Formalin für in Paraffin eingebettete Gewebeschnitte.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Dieses Reagenz wurde aus Gewebekulturüberstand zubereitet. Da es sich um ein biologisches Produkt handelt, sollte bei der Handhabung mit angemessener Sorgfalt vorgegangen werden.

Dieses Reagenz enthält Natriumazid. Ein Material Sicherheits-Datenblatt steht auf Anfrage oder unter folgender Adresse zur Verfügung: www.LeicaBiosystems.com

Potenziell toxische Komponenten sind gemäß den auf Bundes-, Landes oder Regionalebene geltenden Bestimmungen zu entsorgen.

Vor und nach der Fixierung sind die Proben sowie alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt gekommen sind, als potenziell infektiös zu behandeln und daher mit entsprechender Vorsicht zu entsorgen¹. 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 nichtspezifische Färbung auftreten kann. Eine von den angegebenen Spezifikationen abweichende Inkubationszeit oder Temperatur kann zu fehlerhaften Resultaten führen. Alle derartigen Änderungen müssen vom Anwender validiert werden.

Qualitätskontrolle

Unterschiede in Bezug auf Gewebeerarbeitung und technische Verfahren im Labor des Anwenders können zu erheblichen Schwankungen bei den Ergebnissen führen, was eine regelmäßige Durchführung interner Kontrollen zusätzlich zu den folgenden Verfahren erfordert.

Bei den Kontrollen sollte es sich um frische Autopsie-/Biopsieproben oder chirurgische Proben handeln, die wie die Patientenproben schnellstmöglich in Formalin fixiert, bearbeitet und in Paraffinwachs eingebettet wurden.

Positive Gewebekontrolle

Dient zur Anzeige korrekt vorbereiteter Gewebe und entsprechender Färbetechniken.

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 Färbung².

Als positive Gewebekontrolle wird Tonsille empfohlen

Wenn die positive Gewebekontrolle keine positive Färbung aufweist, sind die mit Testproben erzielten Ergebnisse als ungültig zu betrachten.

Negative Gewebekontrolle

Sollte nach der positiven Gewebekontrolle untersucht werden, um die Spezifität der Markierung des Zielantigens durch den Primärantikörper zu verifizieren.

Als negative Gewebekontrolle werden Skelettmuskelfasern empfohlen.

Alternativ ergeben sich häufig negative Kontrollstellen aus der Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorhanden sind, jedoch ist dies vom Anwender zu überprüfen.

Nichtspezifische Färbungen haben meist ein diffuses Aussehen. Bei übermäßig formalinfixiertem Gewebe kann ebenfalls eine sporadische Färbung von Bindegewebe auftreten. Verwenden Sie zur Interpretation der Färbegergebnisse intakte Zellen. Nekrotische oder degenerierte Zellen weisen oft eine nichtspezifische Färbung auf³. Falsch positive Ergebnisse können aufgrund einer nicht immunologischen Bindung von Proteinen oder Substrat-Reaktionsprodukten auftreten.

Sie können – je nach Art der angewendeten immunhistochemischen Färbung – auch durch endogene Enzyme, wie beispielsweise Pseudoperoxidase (Erythrozyten), endogene Peroxidase (Zytochrom C) oder endogenes Biotin (z. B. Leber, Brust, Gehirn, Niere), verursacht sein. Um endogene Enzymaktivität bzw. eine unspezifische Enzymbindung von einer spezifischen Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substratchromogenen bzw. mit Enzymkomplexen (Avidin-Biotin, Streptavidin, markiertes Polymer) und Substratchromogen gefärbt werden. Wenn bei der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung auftritt, sind die mit den Patientenproben erzielten Ergebnisse als ungültig zu betrachten.

Negative Reagenzkontrolle

Wenden Sie bei jeder Patientenprobe eine nichtspezifische Reagenzkontrolle anstelle des Primärantikörpers auf einen Schnitt an, um nichtspezifische Färbungen zu beurteilen und eine bessere Interpretation der spezifischen Färbung an der Antigenstelle zu ermöglichen.

Patientengewebe

Die mit NCL-L-S100-167 gefärbten Patientenproben sind zuletzt zu untersuchen. Die Intensität der positiven Färbung sollte im Kontext einer mit der negativen Reagenzkontrolle erzielten nichtspezifischen Hintergrundfärbung interpretiert werden. 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. Verwenden Sie ggf. ein Antikörperpanel zur Erkennung von falsch negativen Reaktionen.

Erwartete Ergebnisse

Normalgewebe

Der Klon EP32 erkennt das S-100-Protein im Kern und Zytoplasma von Zellen neuroektodermalen Ursprungs in einer Vielzahl verschiedener Gewebe. In Nervenzellen, dendritischen Zellen, Adipozyten und einem Prozentsatz von Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen war eine Immunreaktivität zu beobachten.

Färbung wurde ebenfalls in parenchymalen Zellen im Großhirn, Kleinhirn, Langerhans-Inseln im Pankreas, Myoepithelzellen der Speicheldrüsen, Netzhautzellen des Auges und Myoepithel- und Duktalzellen der Brust beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten normalen Fälle = 117).

Abnormale Gewebe

Der Klon EP32 färbte 20/42 periphere Nerventumore (einschließlich 10/12 maligne Schwannome, 4/4 Ganglioneurome, 3/21 maligne Nervenscheidentumore, 3/4 Neurofibrome und 0/1 primitiv neuroektodermale Tumore), 9/11 maligne Melanome. Es gab keine Färbung in verschiedenen anderen Tumoren einschließlich Tumoren des Verdauungstrakts (0/12), Mammatumoren (0/6), Lungentumoren (0/6), Ovarialtumoren (0/3), hepatozellulären Karzinomen (0/3), Gebärmutterhalstumoren (0/3), Endometriumtumoren (0/3), Blasen Tumoren (0/2), klarzellige Nierenkarzinomen (0/2), Adenokarzinomen der Prostata (0/1), Prostatahyperplasie (0/1) und Plattenepithelkarzinom der Haut (0/1). (Anzahl der insgesamt untersuchten abnormalen Fälle = 96).

S-100 (EP32) wird für den Nachweis von S-100 B-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.

Allgemeine Einschränkungen

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiges Diagnoseverfahren, das aus einer speziellen Schulung in der Auswahl der entsprechenden Reagenzien, der Auswahl, Fixierung und Bearbeitung von Gewebe, der Vorbereitung der IHC-Objektträger und der Interpretation der Färberegebnisse besteht.

Die Gewebefärbung setzt eine sachgemäße Vorbereitung und Bearbeitung des Gewebes voraus. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Anfertigen eines Schnitts oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Uneinheitliche Ergebnisse können auf Variationen bei Fixierung und Einbettmethoden oder auf inhärente Unregelmäßigkeiten innerhalb des Gewebes zurückzuführen sein⁴.

Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann eine entsprechende Interpretation der Ergebnisse erschweren.

Die klinische Einordnung der Färbung bzw. ihres Fehlens sollte durch morphologische Untersuchungen samt entsprechenden Kontrollen abgerundet und unter Berücksichtigung der klinischen Vorgeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Antikörper von Leica Biosystems Newcastle Ltd sind, wie angegeben, für den Gebrauch auf gefrorenen als auch auf in Paraffin eingebetteten Schnitten mit spezifischen Fixierungsanforderungen vorgesehen. Unerwartete Antigenexpression kann, insbesondere in Neoplasmen, auftreten. Die klinische Interpretation von gefärbten Gewebeschnitten muss in jedem Fall eine morphologische Analyse und die Beurteilung entsprechender Kontrollen beinhalten.

Bibliographie – 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Änderungen gegenüber der vorherigen Ausgabe

K/A

Ausgabedatum

01 Juli 2019

Anticuerpo monoclonal líquido de conejo Novocastra S-100 (EP32)

Código de producto: NCL-L-S100-167

Uso previsto

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-S100-167 está indicado para la caracterización cualitativa por microscopía óptica de la proteína S-100B en secciones de parafina. La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de esta debe complementarse con estudios morfológicos usando controles adecuados y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio de procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHC) permiten la visualización de agentes a través de la aplicación secuencial de un anticuerpo específico al antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario al anticuerpo primario y un complejo enzimático con sustrato cromogénico con pasos de lavado interpuestos. La activación enzimática del cromogeno provoca la formación de un producto de reacción visible en el sitio antigénico. El espécimen puede entonces ser contrateñido y cubierto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y ayudan en el diagnóstico diferencial de los procesos patofisiológicos, que pueden o no asociarse con un antígeno particular.

Clon

EP32

Inmunógeno

Un péptido sintético correspondiente a residuos de la proteína S100 Beta humana.

Especificidad

Humana.

Composición del reactivo

NCL-L-S100-167 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

Clase Ig

IgG de conejo

Concentración total de proteína Total Protein

Consulte en la etiqueta del vial la concentración total de Ig específica de proteína.

Concentración de anticuerpo

Igual o superior a 30 mg/L, según lo determinado por ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones de uso

Secciones de parafina o inmunohistoquímica.

Heat Induced Epitope Retrieval HIER (por sus siglas, Recuperación del epitopo inducido por calor): Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Dilución sugerida: 1:100 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta, y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Visualización: Siga las instrucciones de uso de los Polymer Detection Systems Novolink. Para obtener más información sobre el producto o recibir ayuda, póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems; también puede visitar el sitio web de Leica Biosystems, 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

Almacenar a 2–8 °C. No congelar. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.

Las condiciones de almacenamiento distintas a las especificadas anteriormente deberán ser verificadas por el usuario.

Preparación de preparaciones

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

Advertencias y precauciones

El reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de cultivo celular. Dado que se trata de un producto biológico, debe manejarse con especial cuidado.

Este reactivo contiene azida sódica. Existe una ficha de datos de seguridad de los materiales disponible previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com.

Consulte la normativa estatal, regional o local sobre la eliminación de componentes potencialmente tóxicos.

Las preparaciones, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir infecciones, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas¹. 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 preparaciones. Si los reactivos o las preparaciones entran en contacto con zonas delicadas, lávelas con abundante agua. Consulte con un médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción inespecífica.

Los tiempos de incubación y las temperaturas distintos a los especificados pueden dar lugar a resultados erróneos. Cualquiera de estos cambios 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 este lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

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

Control de tejido positivo

Se utiliza para indicar los tejidos correctamente preparados y las técnicas de tinción adecuadas.

Debería incluirse un control de tejido positivo para cada conjunto de condiciones de prueba en cada ciclo de tinción.

Un tejido con tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con tinción positiva fuerte para un control de calidad óptimo y para detectar niveles menores de degradación del reactivo².

El tejido de control positivo recomendado es el de la amígdala

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

Control de tejido negativo

Debería ser examinado tras el control de tejido positivo para verificar la especificidad del etiquetado del antígeno meta por parte del anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es el de las fibras del músculo esquelético.

Por otra parte, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de las secciones de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, si bien esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción inespecífica, esta tiene generalmente aspecto difuso. En secciones de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conjuntivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de tinción. Las células necróticas o degeneradas con frecuencia se tiñen de forma inespecífica³. Pueden producirse resultados de falsos positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o 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 las uniones no específicas de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidin-biotin, streptavidin, polymer marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce tinción específica en el tejido de control negativo, los resultados obtenidos con las preparaciones de paciente deberán considerarse inválidos.

Control de reactivo negativo

Utilice un control del reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario sobre una sección de cada preparación de paciente para evaluar la tinción inespecífica y para conseguir una mejor interpretación de la tinción específica en el sitio antigénico.

Tejido del paciente

Examine las preparaciones del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-S100-167 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. Al igual que en cualquier otra prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado el antígeno, no queriendo decir que el antígeno no esté presente en las células/tejidos analizados. Si es necesario, utilice un panel de anticuerpos para identificar las reacciones negativas falsas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon EP32 detecta la proteína S-100 en el núcleo y el citoplasma de las células de origen neuroectodermal en numerosos tejidos.

Se observó inmunoreactividad en fibras de los nervios, células dendríticas, adipocitos y un porcentaje de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.

También se observó tinción en células parenquimales del cerebro y el cerebelo, islotes de Langerhans del páncreas, células mioepiteliales de las glándulas salivales, células retinales del ojo y células ductales y mioepiteliales de la mama. (Número total de casos sanos evaluados = 117).

Tejidos anormales

El clon EP32 tiñó 20/42 tumores del nervio periférico (incluyendo 10/12 Schwannomas malignos, 4/4 ganglioneuromas, 3/21 tumores malignos de la vaina del nervio periférico, 3/4 neurofibromas y 0/1 tumores neuroectodémicos primitivos), 9/11 melanomas malignos.

No se observó tinción en otros tumores, incluyendo tumores del tracto gastrointestinal (0/12), tumores de mama (0/6), tumores de pulmón (0/6), tumores ováricos (0/3), carcinomas hepatocelulares (0/3), tumores cervicales (0/3), tumores endometriales (0/3), tumores de la vejiga (0/2), carcinomas renales de células claras (0/2), adenocarcinomas prostáticos (0/1), hiperplasia prostática (0/1) y carcinomas de células escamosas de la piel (0/1). (Número total de casos anómalos evaluados = 96).

S-100 (EP32) está recomendado para la detección de proteína S-100 en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

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 portaobjetos para IHC, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de tejidos varía en función de la manipulación y el procesamiento del tejido antes de su tinción. Una inapropiada fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento, sección o la contaminación con otros tejidos o fluidos puede generar artefactos, captura de anticuerpos o resultados de falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión o a irregularidades inherentes del tejido⁴.

Una contratinción excesiva o incompleta puede influir negativamente en la correcta interpretación de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de esta debe complementarse con estudios morfológicos usando controles adecuados y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el 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 embebidas 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 teñido debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles adecuados.

Biografía - 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Tortlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Cambios con respecto a la edición anterior

N/D

Fecha de publicación

01 de julio de 2019

Anticorpo monoclonal líquido de coelho Novocastra S-100 (EP32)

Código do produto: NCL-L-S100-167

Utilização prevista

Para uso em diagnóstico in vitro.

O NCL-L-S100-167 destina-se a ser utilizado na identificação qualitativa por microscopia ótica da proteína S-100B em cortes de parafina. 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 imuno-histoquímica (IHC) permitem que se faça a visualização de antígenos por meio da aplicação sequencial de um anticorpo específico ao antígeno (o anticorpo primário), de um anticorpo secundário ao anticorpo primário e de um complexo enzimático com um substrato cromogénico com etapas de lavagem de permeio. A ativação enzimática do cromogénio resulta num produto de reação visível no local do antígeno. O espécime pode então ser contracolorido e coberto. Os resultados são interpretados por meio de um microscópio ótico e ajudam a formular o diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, os quais podem ou não estar associados a antígenos específicos.

Clone

EP32

Imunogénico

Um péptido sintético correspondente a resíduos na proteína S100 Beta humana.

Especificidade

Humana.

Composição do reagente

NCL-L-S100-167 é um sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo azida de sódio como produto conservante.

Classe de Ig

Coelho IgG

Concentração total de proteínas Total Protein

Consultar o rótulo do recipiente para determinar a concentração total de proteínas do lote específico.

Concentração de anticorpos

Superior ou igual a 30 mg/L, conforme determinado por ELISA. Consultar o rótulo do recipiente para determinar a concentração de Ig do lote específico.

Recomendações sobre o uso

Imuno-histoquímica em cortes de parafina.

Recuperação de epitopos induzida por calor (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Siga as instruções de utilização da Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Diluição sugerida: 1:100 durante 30 minutos a 25°C. Esta recomendação serve apenas de orientação, e os utilizadores devem determinar as suas diluições ótimas de trabalho.

Visualização: Siga as instruções de utilização de Novolink Polymer Detection Systems. Para obter mais informações do produto ou apoio, contacte o seu distribuidor local ou o gabinete regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.

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

Armazenamento e estabilidade

Armazene a 2–8 °C. Não congele. Voltar a colocar entre 2 °C e 8 °C imediatamente após a utilização. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo do recipiente.

As condições de armazenamento que diferem das que se encontram especificadas acima devem ser verificadas pelo utilizador.

Preparação do espécime

O fixador recomendado é formalina tamponada neutra a 10% para secções de tecido impregnadas em parafina.

Avisos e precauções

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

Este reagente contém azida de sódio. Encontra-se disponível uma Ficha de Dados de Segurança do Material, mediante pedido ou através do site www.LeicaBiosystems.com.

Consultar a legislação aplicável em relação à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.

Os espécimes, antes e depois da fixação, bem como todos os materiais expostos às mesmas devem ser manuseados como passíveis de transmitir infeções e eliminados com as devidas precauções¹. Nunca pipetar os reagentes com a boca e evitar o contacto da pele e das membranas mucosas com os reagentes e espécimes. Caso os reagentes ou os espécimes entrem em contacto com áreas sensíveis, lave com água abundante. Procure assistência médica.

Minimize a contaminação microbiana dos reagentes, senão poderá ocorrer um aumento da coloração não específica.

Períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados podem originar resultados erróneos. Quaisquer alterações devem ser validadas pelo utilizador.

Controlo de qualidade

As diferenças no processamento de tecidos e nos procedimentos técnicos no laboratório do utilizador podem resultar em variações significativas nos resultados, requerendo a realização frequente de controlos internos, suplementares aos procedimentos que se seguem.

Os controlos devem ser espécimes de autópsia/biopsia/cirurgia, fixados com formalina, processadas e impregnadas em parafina assim que possível, tal como a(s) amostra(s) do doente.

Controlo de tecido positivo

Utilizado para assinalar os tecidos corretamente preparados e as técnicas de coloração adequadas.

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 ótimo, bem como para detetar níveis reduzidos de degradação dos reagentes².

O tecido de controlo positivo recomendado é o tecido da amígdala

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

Controlo de tecido negativo

Deve ser examinado após o controlo de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno-alvo pelo anticorpo primário.

O tecido de controlo negativo recomendado é o músculo esquelético.

Em alternativa, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria dos cortes de tecido oferece frequentemente locais de controlo negativo, mas tal situação deve ser verificada pelo utilizador.

A coloração não específica, caso ocorra, tem, geralmente, uma aparência difusa. É possível também observar coloração esporádica do tecido conjuntivo em cortes de tecidos fixados com formalina em excesso. Devem utilizar-se células intactas para a interpretação de resultados da coloração. Células necróticas ou degeneradas originam muitas vezes uma coloração não específica³. Os resultados falsos positivos podem ser observados devido à ligação não imunológica de proteínas ou produtos de reação do substrato.

Esses resultados também podem ser causados por enzimas endógenas, como a pseudoperoxidase (eritrócitos), peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (p. ex., fígado, mama, cérebro, rim), dependendo do tipo de imunocoloração usado. Para diferenciar a atividade enzimática endógena ou a ligação não específica de enzimas da imunorreatividade específica, podem corar-se tecidos dos doentes adicionais exclusivamente com substrato-cromogénio ou complexos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímero marcado) e substrato-cromogénio, respetivamente. Se a coloração específica ocorrer no controlo de tecido negativo, os resultados com os espécimes do paciente devem ser considerados inválidos.

Controlo de reagente negativo

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

Tecido do doente

Examinar os espécimes do doente coloridos com NCL-L-S100-167 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração de fundo não específica do controlo de reagente negativo. Como em qualquer teste imuno-histoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detetado e não que estava ausente nas células/tecidos testados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reações falso-negativas.

Resultados previstos

Tecidos normais

O clone EP32 deteta a proteína S-100 no núcleo e no citoplasma de células de origem neuroectodérmica numa variedade de tecidos. A imunorreatividade foi observada em fibras nervosas, células dendríticas, adipócitos e uma percentagem de macrófagos, linfócitos e plasmócitos.

Também foi observada coloração em células parenquimatosas no cérebro e cerebelo, ilhotas de Langerhans no pâncreas, células mioepiteliais de glândulas salivares, células da retina do olho e células mucoepiteliais e ductais da mama. (Número total de casos normais = 117).

Tecidos anormais

O clone EP32 colorou 20/42 tumores do nervo periférico (incluindo 10/12 schwannomas malignos, 4/4 ganglioneuromas, 3/21 tumores malignos da bainha dos nervos periféricos, 3/4 neurofibromas e 0/1 tumores neuroectodérmicos primitivos), 9/11 melanomas malignos. Nenhuma coloração foi detetada em outros tumores, incluindo tumores do trato gastrointestinal (0/12), tumores da mama (0/6), tumores do pulmão (0/6), tumores dos ovários (0/3), carcinomas hepatocelulares (0/3), tumores do colo do útero (0/3), tumores do endométrio (0/3), tumores da bexiga (0/2), carcinomas de células claras do rim (0/2), adenocarcinomas da próstata (0/1), hiperplasia da próstata (0/1) e carcinoma de células escamosas da pele (0/1). (Número total de casos anormais avaliados = 96).

O S-100 (EP32) é recomendado para a deteção da proteína S-100 em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.

Limitações gerais

A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico em múltiplas etapas que consta de formação especializada na seleção dos reagentes adequados: seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação das lâminas de IHC e interpretação dos resultados da coloração.

A coloração dos tecidos depende do seu manuseamento e processamento antes da coloração. A fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefactos, retenção de anticorpos ou resultados falsos negativos. Resultados inconsistentes podem ser provenientes das variações de fixação e métodos de impregnação ou irregularidades inerentes dentro do tecido⁴.

A contracoloração excessiva ou incompleta também pode comprometer a interpretação correta 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 ser utilizados, conforme indicado, em secções de tecido congeladas ou impregnadas em parafina com requisitos de fixação específicos. Pode ocorrer uma expressão inesperada de antígenos, especialmente em neoplasmas. A interpretação clínica de qualquer secção e de tecido colorido deverá incluir a análise morfológica e a avaliação dos 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Alterações à edição anterior

N/A

Data de emissão

01 de Julho de 2019

Novocastra Flytande monoklonal antikropp från kanin S-100 (EP32)

Produktkod: NCL-L-S100-167

Avsedd användning

För användning inom in vitro-diagnostik

NCL-L-S100-167 är avsett för kvalitativ identifiering av S-100B-protein med ljusmikroskopi i paraffinbäddade snitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras av morfologiska studier och korrekta kontroller, samt utvärderas mot bakgrund av patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Förfarandepincip

Immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker tillåter visualisering av antigener genom sekventiell tillämpning av en specifik antikropp till antigenen (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 vid antigenområdet. Provxemplet kan sedan kontrastfärgas och förses med täckglas. Resultaten tolkas med användning av ett ljusmikroskop och underlättar differentialdiagnostiken av patofysiologiska processer, vilka kan men inte behöver vara associerade med ett visst antigen.

Klon

EP32

Immunogen

En syntetisk peptid, motsvarande resterna i humant S100 Beta-protein.

Specifitet

Human.

Reagensinnehåll

NCL-L-S100-167 är en flytande vävnadskultursupernatant som innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

Ig-klass

Kanin-IgG.

Total proteinkoncentration Total Protein

Se flaskans etikett för specifik, total proteinkoncentration.

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 30 mg/L enligt bestämning med ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

Rekommendationer vid användning

Immunohistokemi på paraffinsnitt.

Värmeinducerad epitopåtervinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Följ bruksanvisningen på Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Föreslagen spädning: 1:100 i 30 minuter vid 25 °C. Detta tillhandahålls som en guide och användare bör bestämma sina egna optimala arbetsspädningar.

Visualisering: Följ bruksanvisningen i Novolink Polymer Detection Systems. Du kan få en kopia av materialsäkerhetsdatabladet genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor eller också på Leica Biosystems webbplats, www.LeicaBiosystems.com

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

Lagring och stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Får ej frysas. Återgå till 2–8 °C direkt efter användning. Använd inte efter det utgångsdatum som finns angivet på flaskans etikett.

Lagringsförhållanden som skiljer sig från de ovannämnda måste kontrolleras av användaren.

Preparering av provexempel

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10 % neutralbuffrat formalin.

Varningar och försiktighet

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

Detta reagens innehåller natriumazid. Ett datablad för materialsäkerhet finns tillgängligt på begäran eller från 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 skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.

Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av icke-specifiserad färgning ske.

Återvinning, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot de angivna kan ge felaktiga resultat. Alla sådana ändringar måste bekräftas av användaren.

Kvalitetskontroll

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

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

Positiv vävnadskontroll

Används för att ange korrekt preparerade vävnader och riktiga 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 färgning².

Rekommenderad positiv kontrollvävnad är tonsill

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.

Rekommenderad negativ kontrollvävnad är skelettets muskelfibrer.

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

icke-specifierad färgning, om det förekommer, har vanligtvis 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 färgas ofta specifikt³. 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 endast 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 patientprovexempel för att utvärdera icke-specifierad färgning och tillåta bättre tolkning av specifik färgning på antigenområdet.

Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-S100-167 sist. Positiv färgningsintensitet ska bedömas 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 panel av antikroppar för att identifiera falskt negativa reaktioner.

Förväntade resultat

Normala vävnader

Klon EP32 detekterar S-100 protein i cellkärnor och cytoplasma av neuroektodermalt ursprung i olika vävnader. Immunreaktivitet observerades i nervfibrer, dendritiska celler, fettceller och en procentuell andel av makrofager, lymfocyter plasmaceller.

Färgning observerades även i parenkymatösa celler i cerebrum och cerebellum, Langerhans cellöar i pankreas, myoepiteliala celler i salivkörtlar, celler i ögats näthinna samt myoepiteliala och duktala celler i bröstet. (Totalt antal normalfall = 117).

Onormala vävnader

Klon EP32 färgade 20/42 perifera nervtumörer (inklusive 10/12 maligna schwannom, 4/4 ganglioneurom, 3/21 maligna perifera nervskidtumörer, 3/4 neurofibrom och 0/1 primitiva neuroektodermala tumörer), 9/11 maligna melanom. Ingen färgning observerades i olika andra tumörer, inklusive tumörer i mag-tarmsystemet (0/12), brösttumörer (0/6), lungtumörer (0/6), ovarialtumörer (0/3), levercellcarcinom (0/3), livmoderhalstumörer (0/3), endometrietumörer (0/3), blåstumörer (0/2), klarcellscarcinom i njuren (0/2), adenokarcinom i prostata (0/1), prostatahyperplasi (0/1), och skivepitelkarcinom (0/1). (Totalt antal utvärderade onormala fall = 96).

S-100 (EP32) rekommenderas för detektering av S-100 B-protein i normala eller neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska fläckar.

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 vävnaden⁴.

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

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras av morfologiska studier och korrekta kontroller, samt utvärderas mot bakgrund av patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Antikroppar från Leica Biosystems Newcastle Ltd är till för användning så som anges på antingen frysta eller paraffinbäddade snitt med specifika fixeringskrav. Öväntad antigenmanifestation 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 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Rättelser av tidigare utgivning

Ej tillämpl.

Utgivningsdatum

01 juli 2019

Novocastra Υγρό Μονοκλωνικό Αντίσωμα Rabbit S-100 (EP32)

Κωδικός Προϊόντος: NCL-L-S100-167

Χρήση για την οποία Προορίζεται

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το NCL-L-S100-167 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση μέσω μικροσκοπίας φωτός της πρωτεΐνης S-100B σε τμήματα παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με τη χρήση κατάλληλων μαρτύρων και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο.

Αρχή της Διαδικασίας

Οι ανοσοϊστοχημικές τεχνικές χρώσης (IHC) επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της σταδιακής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτογενές αντίσωμα), ένα δευτερεύον αντίσωμα στο πρωτογενές αντίσωμα κι ένα σύμπλεγμα ενζύμων με χρωμογενικό υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα στάδια έκπλυσης. Η ενζυματική ενεργοποίηση των αποτελεσμάτων του χρωμογόνου σε ένα προϊόν ορατής αντίδρασης στο μέρος του αντιγόνου. Τότε το δείγμα μπορεί να χρωματιστεί και να καλυφθεί. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με τη χρήση μικροσκοπίου φωτός και βοηθούν στη διαφοροποιημένη διάγνωση των παθοφυσιολογικών διαδικασιών, οι οποίες ίσως να σχετίζονται ή και όχι, με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Κλώνος

EP32

Ανοσογόνο

Συνθετικό πεπτιδίο που αντιστοιχεί σε κατάλοιπα της ανθρώπινης πρωτεΐνης S100 Βήτα.

Ειδικότητα

Άνθρωπος/Άνθρώπινη.

Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-S100-167 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

Τάξη Ig

Rabbit IgG (έλεγχος ιστύπου).

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 30 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση ανοσοσφαιρίνης (Ig) ειδικά για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

Οδηγίες για τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε τμήματα παραφίνης.

Ανάκτηση επιτόπων επαγόμενη με θερμότητα (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης για το Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Προτεινόμενη αραιώση: 1:100 για 30 λεπτά στους 25 °C. Αυτό προτείνεται ενδεικτικά και οι χρήστες θα πρέπει να ορίσουν τις δικές τους βέλτιστες αραιώσεις.

Οπτικοποίηση: Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης των Novolink Polymer Detection Systems. Για περισσότερες πληροφορίες για το προϊόν ή για υποστήριξη, επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα σας ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems ή εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον Ιστότοπο της Leica Biosystems, 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

Φυλάξτε στους 2–8 °C. Μην καταψύχετε. Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση. Μην το χρησιμοποιείτε μετά τη λήξη της ημερομηνίας που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου.

Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη.

Προετοιμασία Δείγματος

Το συνιστάμενο σταθεροποιητικό είναι 10% ουδέτερης φορμαλίνης για ενσωματωμένα τμήματα ιστού σε παραφίνη.

Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις

Το παρόν αντιδραστήριο έχει προετοιμαστεί από το υγρό υπερκείμενο καλλιέργειας κυττάρων. Καθώς πρόκειται για βιολογικό προϊόν, χρήζει προσεκτικής φροντίδας κατά τη χρήση του.

Αυτό το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου. Το Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού διατίθεται κατόπιν αιτήματος ή από τη διεύθυνση www.LeicaBiosystems.com

Συμβουλευτείτε τους Ομοσπονδιακούς, Πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη οποιωνδήποτε δυνητικών τοξικών συστατικών.

Δείγματα, πριν και μετά την σταθεροποίηση και όλα τα εκτεθειμένα, σε αυτά, = υλικά, θα πρέπει να χειρίζονται ως ικανά για μετάδοση λοιμώξεων και να απορρίπτονται με τις κατάλληλες προφυλάξεις¹. Ποτέ μην κάνετε αναρρόφηση αντιδραστήριου με πιπέτα, από το στόμα και αποφεύγετε την επαφή με το δέρμα και τους βλεννογονίους με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.

Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.

Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε παρόμοια αλλαγή πρέπει να επικυρωθεί από τον χρήστη.

Έλεγχος Ποιότητας

Διαφορές στην επεξεργασία ιστού και τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδεχομένως να προκαλέσουν σημαντική διαφοροποίηση ως προς τα αποτελέσματα, απαιτώντας συχνή διενέργεια εσωτερικών ελέγχων επιπρόσθετων στις ακόλουθες διαδικασίες.

Οι έλεγχοι πρέπει να συνίστανται σε φρέσκα δείγματα αυτοψίας/βιοψίας/ χειρουργικά, μονιμοποιημένα σε φορμαλίνη, επεξεργασμένα και ενωματούμενα σε παραφίνη, όσο το δυνατόν συντομότερα κατά τον ίδιο τρόπο με το/τα δείγμα(τα) του ασθενούς.

Έλεγχος Μάρτυρα Θετικού Ιστού

Χρησιμοποιείται για να υποδείξει ορθά προετοιμασμένους ιστούς και κατάλληλες τεχνικές χρώσης.

Για κάθε σετ συνθηκών δοκιμής σε κάθε χώρο χρώσης, ένας θετικός έλεγχος μάρτυρα ιστού θα πρέπει να περιλαμβάνεται σε αυτό.

Ένας ιστός με ασθενή θετική χρώση είναι πιο κατάλληλος από έναν ιστό με ισχυρή θετική χρώση για τον βέλτιστο έλεγχο ποιότητας και για να διερευνήσει ελάχιστα επίπεδα υποβάθμισης του αντιδραστήριου².

Συνιστώμενος ιστός ελέγχου θετικού μάρτυρα είναι η αμυγδαλή

Εάν ο έλεγχος θετικού μάρτυρα ιστού δεν καταφέρει να αποδείξει θετική χρώση, αποτελέσματα με δείγματα δοκιμής πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Έλεγχος Αρνητικού Μάρτυρα Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά από τον έλεγχο μάρτυρα θετικού ιστού για να διαπιστώνεται η ειδικότητα της επισήμανσης του αντιγόνου στόχου από το πρωτογενές αντίσωμα.

Το συνιστώμενο δείγμα ελέγχου αρνητικού μάρτυρα ιστού είναι οι ίνες των σκελετικών μυών.

Εναλλακτικά, η ποικιλία διαφόρων τύπων κυττάρων που βρίσκονται στις περισσότερες ζώνες του ιστού, συχνά προσφέρουν σημεία αρνητικού ελέγχου, αλλά αυτό θα έπρεπε να διερευνηθεί από τον χρήστη.

Μη ειδική χρώση, αν υπάρχει, έχει συνήθως ακαθόριστη εμφάνιση. Σποραδική χρώση του συνδετικού ιστού μπορεί επίσης να παρατηρηθεί σε ζώνες υπερβολικά -μονιμοποιημένων με φορμαλίνη- ιστών. Χρησιμοποίησε ανέπαφα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης. Νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα επιχρωματίζουν συχνά μη ειδικά³. Λανθασμένα θετικά αποτελέσματα μπορεί να ειδωθούν εξαιτίας μη-ανοσοποιητικού δεσμάτος των πρωτεϊνών ή υποκείμενων προϊόντων αντίδρασης.

Μπορεί επίσης να προέλθουν από ενδογενή ένζυμα όπως η ψευδοπυροξειδάση (ερυθροκύτταρα), ενδογενή υπεροξειδάση (κυτρώματα C), ή ενδογενή βιτίνη (πχ. συκώτι, μαστός, εγκέφαλος, νεφρό) ανάλογα με τον τύπο της ανοσολογικής χρώσης που χρησιμοποιήθηκε. Για να διαφοροποιηθεί η δραστηριότητα των ενδογενών ενζύμων ή μη ειδική σύνδεση των ενζύμων από την συγκεκριμένη ανοσοαντιδραστικότητα, επιπρόσθετοι ιστοί ασθενούς μπορεί να επιχρωματιστούν αποκλειστικά με υπόστρωμα χρωμαζίνης ή συμπλέγματα ενζύμων (αβιδίνη-βιτίνη, στρεπταβιδίνη, σεσημασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα. Εάν συμβεί εξειδικευμένη χρώση στον έλεγχο αρνητικού μάρτυρα, αποτελέσματα από τα δείγματα ασθενούς πρέπει να θεωρηθούν άκυρα.

Αρνητικός Έλεγχος Μάρτυρα Αντιδραστήριου

Χρησιμοποιήστε έναν μη εξειδικευμένο αρνητικό έλεγχο μάρτυρα αντιδραστήριου αντί του πρωτογενούς αντισώματος με ένα μέρος από κάθε δείγμα ασθενούς για να εκτιμηθεί η μη ειδική χρώση και να επιτραπεί καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στο μέρος του αντιγόνου.

Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τα δείγματα ιστού ασθενούς που έχουν χρωστεί με NCL-L-S100-167, τελευταία. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται εντός του πλαισίου μιας οποιασδήποτε μη ειδικής υποδόκουσας χρώσης του ελέγχου αρνητικού αντιδραστήριου. Όπως και με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική δοκιμή, η αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε από τα κύτταρα/ιστό που ελέγχθηκαν. Εάν απαραίτητο, χρησιμοποιήστε ένα πάνελ από αντισώματα για να εντοπίσετε ψευδοαρνητικές αντιδράσεις.

Αναμενόμενα αποτελέσματα

Φυσιολογικοί Ιστοί Ο Κλώνος EP32 ανιχνεύει την πρωτεΐνη S-100 στον πυρήνια και το κυτταρόπλασμα των κυττάρων νευροεκτοδερμικής προέλευσης σε ποικιλία ιστών. Η Ανοσοαντιδραστικότητα παρατηρήθηκε σε νευρικές ίνες, δενδριτικά κύτταρα, λιποκύτταρα και σε ποσοστό μακροφάγων, λεμφοκυττάρων και πλασμοκυττάρων.

Χρώση παρατηρήθηκε επίσης στα παρεγχυματικά κύτταρα του εγκέφαλου και της παρεγκεφαλίδας, τα νησίδια του Langerhans στο πάγκρεας, τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα των σιελογόνων αδένων, τα κύτταρα του αμφιβληστροειδούς του ματιού και τα μυοεπιθηλιακά και πορογενή κύτταρα του μαστού. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 117).

Ιστοί Όγκων Ο Κλώνος EP32 επιχρωμάτισε 20/42 των περιφερικών όγκων του νευρικού συστήματος (συμπεριλαμβανόμενων 10/12 των κακοηθών Νευριλιωμάτων (Σβαννωμάτων), το 4/4 των γαγγλιονευρωμάτων, το 3/21 των κακοηθών περιφερικών όγκων του νευρικού συστήματος, τα 3/4 των νευροϊνωματωμάτων και το 0/1 των πρωτογενών νευροεκτοδερμικών όγκων), το 9/11 των κακοηθών μελανωμάτων. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε άλλους διάφορους όγκους συμπεριλαμβανομένων των όγκων της γαστρεντερικής οδού (G1) (0/12), των όγκων του μαστού (0/6), των όγκων του πνεύμονα (0/6), των όγκων των ωοθηκών (0/3), των ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων (0/3), των όγκων του τραχήλου της μήτρας, των όγκων του ενδομητρίου (0/3), των όγκων του εντέρου (02), των διαγώνων κυττάρων νεφρικών καρκινωμάτων (0/2), των αδενοκαρκινωμάτων του προστάτη (0/1), της υπερπλασίας του προστάτη (01) και των πλακωδών δερματικών κυττάρων (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 96).

Το S-100-EP32 συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης S-100 Β σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.

Γενικοί Περιορισμοί

Η Ανοσοϊστοχημεία είναι μία πολυεπίπεδη διαγνωστική διαδικασία που συνίσταται στην εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, την επιλογή ιστών, σταθεροποίηση και επεξεργασία, την προετοιμασία της διαφάνειας Ανοσοϊστοχημείας (IHC) και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης.

Η χρώση ιστού εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν τη χρώση. Ακατάλληλη σταθεροποίηση, κατάψυξη, έγχυση, έκπλυση, στέγνωμα, ζέσταμα, διάτμηση ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά ενδέχεται να προκαλέσουν σφάλματα, παγίδευση αντισωμάτων ή ψευδή αρνητικά αποτελέσματα. Μη συνεκτικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε διαφοροποιήσεις στη σταθεροποίηση και τις ενσωματωμένες μεθόδους, ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού⁴.

Υπερβολική ή ατελής χρώση ενδέχεται να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με τη χρήση κατάλληλων μαρτύρων και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο.

Τα αντισώματα της Leica Biosystems Newcastle Ltd προορίζονται για χρήση, όπως υποδεικνύεται, είτε σε καταψυγμένες ή ενσωματωμένα με παραφίνη τμήματα με ειδικές απαιτήσεις σταθεροποίησης. Απρόσμενη εκδήλωση αντίδρασης ενδέχεται να συμβεί, ειδικά σε νεοπλάσματα. Η κλινική ερμηνεία οποιουδήποτε τμήματος επιχρωματισμένου ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων ελέγχων.

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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Τροποποιήσεις στην Προηγούμενη Έκδοση

Δεν Ισχύει.

Ημερομηνία έκδοσης

01 Ιουλίου 2019

Novocastra flydende kanin monoklonalt antistof S-100 (EP32)

Produktkode: NCL-L-S100-167

Tiltænkt brug

Til in vitro-diagnostisk anvendelse.

NCL-L-S100-167 er beregnet til kvalitativ identifikation af S-100B-protein i paraffinsnit ved hjælp af lysmikroskopi. Den kliniske tolkning af en eventuel farvning eller fravær heraf skal suppleres med morfologiske undersøgelser ved anvendelse af passende kontroller og skal evalueres af en kvalificeret patolog på baggrund af patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests.

Procedureprincip

Immunhistokemiske (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel påføring af et specifikt antistof på antigenet (det primære antistof), et sekundært antistof på det primære antistof og et enzymkompleks med et kromogent substrat med mellemliggende vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Proven kan derefter kontrastfarves og tildækkes med dækglas. Resultaterne tolkes ved brug af et lysmikroskop og hjælper med at stille en differentialdiagnose af patofysiologiske processer, som kan eller ikke kan være forbundet med et specifikt antigen.

Klon

EP32

Immunogen

En syntetisk peptid, som svarer til rester af humant S100 Beta-protein.

Specifitet

Humant.

Reagenssammensætning

NCL-L-S100-167 er en flydende vævskultursupernatant indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

Ig-klasse

Kanin-IgG.

Total proteinkoncentration Total Protein

Den partispecifikke totale proteinkoncentration kan findes på hætteglasets mærke.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 30 mg/L som angivet af ELISA. Den partispecifikke Ig-koncentration kan findes på hætteglasets mærke.

Anbefalinger for brug

Immunhistokemi på paraffinsnit.

Varmefremkaldt epitophentning (Heat Induced Epitope Retrieval HIER): Følg brugsanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Foreslået fortynding: 1:100 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun vejledende, og brugerne skal bestemme deres egne optimale arbejdsopløsninger.

Visualisering: Følg brugsanvisningen til Novolink Polymer Detection Systems. For yderligere produktinformation eller support kan du kontakte din lokale forhandler eller regionskontoret for Leica Biosystems, eller du kan besøge Leica Biosystems' hjemmeside på www.LeicaBiosystems.com

Ydeevnen af dette antistof bør valideres, når det anvendes sammen med andre manuelle farvningssystemer eller automatiserede platforme.

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke nedfryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart efter brug. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen angivet på hætteglasmærket.

Andre opbevaringsforhold end dem, der er specificeret herover, skal verificeres af brugeren.

Klargøring af prøver

Det anbefalede fikseringsmiddel er 10 % neutralbufferet formalin til paraffin-indlejrede vævssnit.

Advarsler og forholdsregler

Dette reagens er udarbejdet fra cellekultur supernatanten. Da det er et biologisk produkt, skal der udvises rimelig omhu, når det håndteres. Dette reagens indeholder natriumazid. Et sikkerhedsdatablad er tilgængeligt på forespørgsel eller tilgængeligt fra www.LeicaBiosystems.com

Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i henhold til statslig eller lokal lovgivning.

Prøver før og efter fiksering, og alle materialer, som udsættes for dem, skal håndteres som smittefarlige og bortskaffes efter egnede forholdsregler¹. Pipetter aldrig reagenset via munden, og undgå at berøre hud og slimhinder med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles med rigelige mængder vand. Søg lægehjælp.

Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget uspecifik farvning.

Inkubationstider eller temperaturer, der er anderledes end de anførte, kan medføre fejlagtige resultater. Enhver ændring heraf skal valideres af brugeren.

Kvalitetskontrol

Forskelle i vævsbehandling og tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan medføre en signifikant variation i resultaterne, der nødvendiggør regelmæssig udførelse af interne kontroller foruden følgende procedurer.

Kontrollerne skal være friske obduktions-/biopsi-/kirurgiske prøver, der formalinfikseres, behandles og paraffinvoksindlejres så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøven/-prøverne.

Positiv vævskontrol

Anvendes til visning af korrekt præpareret væv og korrekte farvningsteknikker.

Der skal inkluderes én positiv vævskontrol for hvert sæt af testbetingelser i hver farvningskørsel.

Et væv med svag positiv farvning er mere egnet end et væv med kraftig positiv farvning til optimal kvalitetskontrol og til detektion af mindre grader af reagensdegradering².

Anbefalet positivt kontrolvæv er tonsilvæv

Hvis den positive vævskontrol ikke viser positiv farvning, bør resultaterne fra patientprøverne betragtes som ugyldige.

Negativ vævskontrol

Skal undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere specificiteten af mærkningen af målantigenet ved hjælp af det primære antistof.

Anbefalet negativt kontrolvæv er skeletmuskel fibre.

Alternativt giver varieteten af forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, ofte negative kontrolsteder, men dette bør verificeres af brugeren.

Hvis der forekommer uspecifik farvning, har den ofte en diffus fremtoning. Sporadisk farvning af bindevæv kan også forekomme i snit fra kraftigt formalinfikserede væv. Brug intakte celler til tolkning af farvningsresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farver ofte ikke-specifikt³. Falsk positive resultater kan forekomme på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter.

De kan også skyldes endogene enzymer såsom pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroxidase (cytokrom C) eller endogen biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarvning. Til differentiering af endogen enzymaktivitet eller ikke-specifik binding af enzymer fra specifik immunreaktivitet, kan ekstra patientvæv farves eksklusivt med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, mærkede polymer) og substratkromogen. Hvis der forekommer specifik farvning i den negative vævskontrol, bør resultaterne af patientprøverne betragtes som ugyldige.

Negativ reagenskontrol

Brug en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof sammen med et snit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og åbne mulighed for en bedre tolkning af specifik farvning i antigenstedet.

Patientvæv

Undersøg patientprøver farvet med NCL-L-S100-167 sidst. Intensiteten af positiv farvning skal vurderes på baggrund af eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som ved 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. Brug om nødvendigt et panel af antistoffer til at identificere falske negative reaktioner.

Forventede resultater

Normalt væv

Klon EP32 registrerer S-100 protein i kernen og cytoplasmaet hos celler af neuroektodermal oprindelse i en række forskellige væv. Immunreaktivitet blev observeret i nervefibre, dendritiske celler, adipocytter og en procentdel af makrofager, lymfocytter og plasmaceller.

Farvning blev også observeret hos grundvævsceller i cerebrum og cerebellum, holme af Langerhans-celler i bugspytkirtlen, myoepithelial i ørespytkirtelen, retinalceller i øjet samt myoepithelial- og ductalceller i brystet. (Samlet antal normale tilfælde = 117).

Abnorme væv

Klon EP32 farvede 20/42 perifere nervetumorer (inklusive 10/12 maligne Schwannomer, 4/4 ganglioneuromer, 3/21 maligne perifere nerveknættetumorer, 3/4 neurofibromer og 0/1 primitive neuroektodermale tumorer) samt 9/11 maligne melanomer. Ingen farvning blev påvist i andre forskellige tumorer, herunder GI-tumorer (0/12), brysttumorer (0/6), lungetumorer (0/6), ovarietumorer (0/3), hepatocellulære karcinomer (0/3), cervicaltumorer (0/3), endometritumorer (0/3), blæretumorer (0/2), klarcellet nyrecellekarcinomer (0/2), prostataadenokarcinomer (0/1), prostata hyperplasi (0/1), og pladecellekarcinom i huden (0/1). (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 96).

S-100-EP32 anbefales til påvisning af S-100 B-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.

Generelle begrænsninger

Immunhistokemi er en diagnostisk proces i flere trin, der består af specialiseret træning i at vælge passende reagenser, vævsvalg, fiksering og forarbejdning samt præparering af IHC-objektglasset og tolkning af farvningsresultaterne.

Vævsfarvning afhænger af håndteringen og behandlingen af vævet før farvningen. Ukorrekt fastgøring, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, snitning eller kontaminering med andre væv eller væsker kan frembringe artefakter, antistofindfangning eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indstøbningsmetoder eller uregelmæssigheder i vævet⁴.

Kraftig eller ufuldstændig kontrastfarvning kan påvirke en korrekt tolkning af resultaterne.

Den kliniske tolkning af en eventuel farvning eller fravær heraf skal suppleres med morfologiske undersøgelser ved anvendelse af passende kontroller og skal evalueres af en kvalificeret patolog på baggrund af patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er til brug som angivet på enten frosne eller paraffinindstøbte snit med specifikke fikseringskrav. Uventet antigenekspression kan forekomme, især i neoplasmer. Den kliniske tolkning af et farvet vævssnit skal inkludere en morfologisk analyse og en 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. *American Journal of Cancer Research* 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2015; 23(1):1-18

Ændringer til tidligere udgave

Ikke tilgængelig.

Udgivelsesdato

01 juli 2019

Novocastra vloeibaar monoklonaal konijnantilichaam S-100 (EP32)

Productcode: NCL-L-S100-167

Beoogd gebruik

Voor diagnostisch gebruik *in vitro*.

NCL-L-S100-167 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie van humaan S-100B-eiwit in paraffinecoupes door middel van lichtmicroscopie. De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Principe van de procedure

Immunohistochemische (IHC) kleuringstechnieken maken het mogelijk om antigenen te visualiseren via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam op het antigeen (primaar antilichaam), een secundair antilichaam op het primaire antilichaam en een enzymcomplex met een chromogeen substraat met ingevoegde wasstappen. De enzymatische activering van het chromogeen resulteert in een zichtbaar reactieproduct op de antigeenplaats. Het monster kan dan worden tegengekleurd en met een dekglasje worden bedekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lichtmicroscopie en helpen bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die al dan niet met een bepaald antigeen kunnen worden geassocieerd.

Kloon

EP32

Immunogeen

Een synthetisch peptide dat overeenkomt met residuen in humaan S100 Beta-eiwit.

Specificiteit

Humaan.

Reagenssamenstelling

NCL-L-S100-167 is een vloeibaar supernatant uit weefselkweek met natriumazide als conserveermiddel.

Ig-klasse

Konijn IgG.

Totale eiwitconcentratie

Total Protein

Zie het etiket van de flacon voor de totale eiwitconcentratie van de partij.

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 30 mg/L zoals bepaald door ELISA. Zie het etiket van de flacon voor de totale Ig-concentratie van de partij.

Aanbevelingen voor het gebruik

Immunohistochemie op paraffinecoupes.

Warmte-geïnduceerd epitopheerstel (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Volg de aanwijzingen voor gebruik in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Voorgestelde verdunning: 1:100 gedurende 30 minuten bij 25 °C. Dit is een richtsnoer en gebruikers moeten zelf de voor hen optimale werkverdunning bepalen.

Visualisatie: Volg de instructies voor het gebruik in de Novolink Polymer Detection Systems. Voor verdere productinformatie of -ondersteuning kunt u contact opnemen met uw lokale distributeur of de regionale vestiging van Leica Biosystems of u kunt naar de Leica Biosystems Website gaan, www.LeicaBiosystems.com

De prestaties van dit antilichaam moeten worden gevalideerd bij gebruik met andere handmatige kleuringssystemen of geautomatiseerde platformen.

Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2–8 °C. Niet invriezen. Plaats het product direct na gebruik weer terug bij een temperatuur van 2-8 °C. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het etiket van de flacon staat.

Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geleverd.

Specimenpreparatie

Het aanbevolen fixatiemiddel is 10% neutraal gebufferde formaline voor in paraffine ingebedde weefselcoupes.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Dit reagens is bereid uit het supernatant van celkweek. Aangezien dit een biologisch product is, moet redelijke voorzichtigheid worden betracht bij het hanteren ervan.

Dit reagens bevat natriumazide. Een veiligheidsinformatieblad is verkrijgbaar op aanvraag of op www.LeicaBiosystems.com

Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor het afvoeren van potentieel giftige componenten.

Specimens, zowel voor als na de fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en met inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd¹. Pipetteer reagentia nooit met de

mond en vermijd dat de huid en slijmvliezen in aanraking komen met reagentia en specimens. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, moet u deze wassen met een overvloedige hoeveelheid water. Raadpleeg een arts.

Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen.

Andere incubatietijden of temperaturen dan hierin vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Kwaliteitscontrole

Verschillen in weefselbewerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen tot aanzienlijke variabiliteit in de resultaten leiden, waardoor het nodig is om regelmatig interne controles uit te voeren als aanvulling op de volgende procedures.

Controles zijn verse autopsie-/biopsie-/chirurgische specimens die zo snel mogelijk en op dezelfde manier als het monster of de monsters van de patiënt zijn gefixeerd in formaline, bewerkt en ingebed in paraffinewas.

Positieve weefselcontrole

Wordt gebruikt om aan te geven dat weefsels correct geprepareerd zijn en dat passende kleuringstechnieken zijn gebruikt.

Voor elke set testvoorwaarden in elke kleuringsrun moet één positieve weefselcontrole worden opgenomen.

Voor optimale kwaliteitscontrole en detectie van lichte degeneratie van het reagens is een weefsel met zwakke positieve kleuring meer geschikt dan een weefsel met sterke positieve kleuring².

Aanbevolen positief controleweefsel is tonsil

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

Negatieve weefselcontrole

De negatieve weefselcontrole moet na de positieve weefselcontrole worden onderzocht om de specificiteit van de labeling van het doelantigeen door het primaire antilichaam te verifiëren.

Aanbevolen negatieve weefselcontrole is skeletspiervezels.

Aan de andere kant levert de verscheidenheid aan diverse cellypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, vaak negatieve controlelocaties op, maar dit moet wel worden geverifieerd door de gebruiker.

Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, ziet er doorgaans diffuus uit. Een sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in coupes van overmatig in formaline gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor het interpreteren van kleuringresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specifiek³. Fout-positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten.

Ze kunnen ook worden veroorzaakt door endogene enzymen zoals pseudoperoxidase (erythrocyten), endogene peroxidase (cytochrom c) of endogeen biotine (bv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring. Om activiteit van endogene enzymen of niet-specifieke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immunoreactiviteit, kunnen aanvullende patiëntweefsels worden gekleurd met respectievelijk uitsluitend substraatchromogeen of enzymcomplexen (avidine-biotine, streptavidine, gelabeld polymeer) en substraatchromogeen. Als er specifieke kleuring optreedt in de negatieve weefselcontrole, moeten resultaten met de patiëntmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve reagenscontrole

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole van het primaire antilichaam met een coupe van elk patiëntspecimen om niet-specifieke kleuring te evalueren en specifieke kleuring op de antigeenlocatie beter te kunnen interpreteren.

Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-S100-167 zijn gekleurd als laatste. De intensiteit van de positieve kleuring moet worden geëvalueerd binnen de context van niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of het onderzochte weefsel. Gebruik zo nodig een panel antilichamen om fout-negatieve reacties te identificeren.

Verwachte resultaten

Normale weefsels

Kloon EP32 detecteert S-100-eiwit in de kern en het cytoplasma van cellen van neuro-ectodermale oorsprong in verschillende weefsels. Er werd immunoreactiviteit waargenomen in zenuwvezels, dendritische cellen, adipocyten en een percentage van macrofagen, lymfocyten en plasmacellen.

Kleuring werd ook waargenomen in parenchymcellen in het cerebrum en cerebellum, de eilandjes van Lagerhans in de alveesklier, myo-epitheelcellen van de speekselklieren, retinale cellen van het oog en myo-epitheelcellen en ductale cellen van de borst. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 117).

Abnormale weefsels

Kloon EP32 kleurde 20/42 perifere zenuwtumoren (waaronder 10/12 maligne Schwannomen, 4/4 ganglioneuomen, 3/21 maligne tumoren van perifere zenuwscheden, 3/4 neurofibromen en 0/1 primitieve neuro-ectodermale tumoren) en 9/11 maligne melanomen.

Er werd geen kleuring waargenomen in andere verschillende tumoren, waaronder maagdarmanaaltumoren (0/12), borsttumoren (0/6), longtumoren (0/6), eierstoktumoren (0/3), hepatocellulaire carcinomen (0/3), cervixtumoren (0/3), endometriumcarcinomen (0/3), blaastumoren (0/2), 'clear cell'-niercarcinomen (0/2), adenocarcinomen van de prostaat (0/1), prostaathyperplasie (0/1) en plaveiselcelcarcinomen van de huid (0/1). (Totaal aantal beoordeelde afwijkende gevallen = 96).

S-100 (EP32) wordt aanbevolen voor het detecteren van S-100 B-eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.

Algemene beperkingen

Immunohistochemie (IHC) is een diagnostisch meerstapsproces waarvoor een gespecialiseerde opleiding nodig is in het kiezen van de juiste reagentia, het selecteren, fixeren en bewerken van weefsel, het prepareren van IHC-objectglasjes en het interpreteren van de kleuringresultaten.

Weefselkleuring is afhankelijk van de manier waarop het weefsel vóór de kleuring wordt behandeld en bewerkt. Verkeerd fixeren, invriezen, ontdooien, wassen, drogen, verwarmen, snijden of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan tot artefacten, insluiting van antilichamen of fout-negatieve resultaten leiden. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethode, of aan intrinsieke onregelmatigheden in het weefsel¹.

Een te sterke of onvolledige tegenkleuring kan een juiste interpretatie van de resultaten bemoeilijken of onmogelijk maken.

De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Antilichamen van Leica Biosystems Newcastle Ltd zijn bedoeld voor gebruik, zoals aangegeven, op bevroren of in paraffine ingebedde coupes die een specifieke fixatie vereisen. Er kan onverwachte antigeenexpressie optreden, met name bij neoplasma's. De klinische interpretatie van gekleurde weefselcoupes moet een morfologische analyse en de evaluatie van overeenkomstige controles bevatten.

Literatuurlijst – algemeen

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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Tortlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Aanpassingen ten opzichte van de vorige uitgave

N.v.t.

Datum uitgave

01 juli 2019

Novocastra flytende monoklonalt antistoff fra kanin S-100 (EP32)

Produktkode: NCL-L-S100-167

Tiltenkt bruk

Til in vitro-diagnostisk bruk.

NCL-L-S100-167 er tiltenkt kvalitativ identifikasjon av S-100B-protein i parafinsnitt ved lysmikroskopi. Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester.

Prinsipp for prosedyren

Teknikker for immunhistokjemisk (IHC) farging muliggjør visualisering av antigener via sekvensiell applikasjon av et spesifikt antistoff på antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff på det primære antistoffet og et enzymkompleks med et kromogen substrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter kontrastfarges og påføres dekkglass. Resultatene tolkes ved hjelp av et lysmikroskop og bidrar til differensialdiagnosen for patofysiologiske prosesser, som kan være tilknyttet et spesielt antigen eller ikke.

Klon

EP32

Immunogen

En syntetisk peptid som tilsvarer rester av menneskelig S100 betaprotein.

Spesifisitet

Humant.

Reagenssammensetning

NCL-L-S100-167 er en flytende vevskultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

Ig-klasse

IgG fra kanin.

Total proteinkonsentrasjon Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk totalproteinkonsentrasjon.

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 30 mg/L som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk Ig-konsentrasjon.

Anbefalinger for bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

Varmeindusert epitopgenfinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Følg bruksanvisningen for bruk i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Foreslått fortykning: 1:100 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun veiledende, og brukerne bør fastslå egne optimale fortyninger for sitt arbeid.

Visualisering: Følg bruksanvisningen for bruk i Novolink Polymer Detection Systems. For ytterligere produktinformasjon eller støtte, kontakt din lokale forhandler eller regionskontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems' nettsted på www.LeicaBiosystems.com

Ytelsen til dette antistoffet skal valideres når det brukes med andre systemer for manuell farging eller automatiserte plattformer.

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på etiketten på hetteglasset.

Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor, må verifiseres av brukeren.

Prøveklargjøring

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralbufret formalin for parafininnstøpte vevsnett.

Advarsler og forholdsregler

Dette reagenset ble fremstilt fra supernatanten fra cellekultur. Ettersom det er et biologisk produkt, må det utvises rimelig forsiktighet når det håndteres.

Denne reagensen inneholder natriumazid. Et sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på forespørsel eller tilgjengelig fra www.LeicaBiosystems.com

Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avfallshåndtering av potensielt toksiske komponenter.

Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som utsettes for dem, skal håndteres som smittefarlige og avhendes etter egnede forholdsregler. Pipetter aldri reagenser via munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med følsomme områder, skyl med rikelige mengder vann. Kontakt lege.

Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging.

Andre inkuberingsstider eller temperaturer enn de som er spesifisert, kan gi feilaktige resultater. Alle slik endringer må valideres av brukeren.

Kvalitetskontroll

Forskjeller i vevprosessering og tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan frembringe signifikant variasjon i resultatene og gjør det påkrevd med regelmessige interne ytelseskontroller i tillegg til følgende prosedyrer.

Kontroller skal være ferske prøver fra obduksjon/biopsi/kirurgi, som er formalinfiksert, behandlet og parafinvoksinntøpt så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e).

Positivt kontrollvev

Brukes for å indikere riktig klargjorte vev og riktige fargingsteknikker.

Ett positivt kontrollvev 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 reagensnedbrytning².

Anbefalt positivt kontrollvev er tonsil

Hvis den positive vevskontrollen ikke gir positiv farging, skal resultater med testprøvene betraktes som ugyldige.

Negativt kontrollvev

Skal undersøkes etter det positive kontrollvevet for å verifisere spesifisiteten i merkingen av målantigenet med det primære antistoffet.

Anbefalt negativt kontrollvev er skjelettmuskulaturfibre.

Alternativt gir variasjonen av forskjellige celletyper som kan finnes i de fleste vevsnett ofte rom for negativ kontroll, men dette må verifiseres av brukeren.

Uspesifikk farging, hvis dette forekommer, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev vil også kunne observeres i vevsnett som er fiksert i for mye formalin. Bruk intakte celler til tolkning av fargingsresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte ikke-spesifikt³. Falske positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter.

De kan også forårsakes av endogene enzymer slik som pseudoperoksidase (erythrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av type immunfarging som brukes. For å differensiere endogen enzymaktivitet eller ikke-spesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet kan ekstra pasientvev farges eksklusivt med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det forekommer spesifikk farging i de negative vevkontrollene, skal resultater med pasientprøvene betraktes som ugyldige.

Negativ reagenskontroll

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med et snitt av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og gi bedre mulighet for tolkning av den spesifikke fargingen på antigenstedet.

Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-S100-167 sist. Positiv fargingsintensitet skal vurderes i lys av eventuell ikke-spesifikk bakgrunnsfarging i den negative reagenskontrollen. På samme måte som for alle andre immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet ikke var til stede i cellene / det analyserte vevet. Om nødvendig, skal det brukes et panel med antistoffer til å identifisere falske negative reaksjoner.

Forventede resultater

Normale vev

Klone EP32 detekterer S-100-protein i kjerne og cytoplasma av celler av neuroektodermalt opphav i en rekke forskjellige vev. Immunreaktivitet ble observert i nervefibre, dendritiske celler, adipocytter og en prosentandel av makrofager, lymfocytter og plasmaceller.

Farging ble også observert i parenkymale celler i cerebrum og cerebellum, øyer av Langerhans i bukspyttkjertelen, myopiteliale celler i spyttkjertlene, retinale celler i øyet og myopiteliale og duktale celler i brystet. (Totalt antall normale tilfeller = 117).

Unormale vev

Klone EP32 farget 20/42 perifere nervetumorer (inkludert 10/12 ondartede Schwannoma, 4/4 ganglioneuroma, 3/21 ondartede perifere nerveskjedetumorer, 3/4 nevrofibromer og 0/1 primitive neuroektodermale tumorer), 9/11 ondartede melanomer. Ingen farging detektert i andre diverse tumorer, inkludert tumorer i GI-kanalen (0/12), i bryst (0/6), i lunger (0/6), på eggstokker (0/3), hepatocellulære karsinomer (0/3), livmorhalsstomur (0/3), endometriale tumorer (0/3), blæretumorer (0/2), renale nyrecellekarsinomer (0/2), prostataadenokarsinomer (0/1), prostatahyperplasia (0/1) og skvamøse cellekarsinomer av huden (0/1). (Totalt antall unormale tilfeller evaluert = (96).

S-100 (EP32) anbefales for deteksjon av S-100 B-protein i normale og neoplastiske vev, som tillegg til konvensjonell histopatologi ved bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.

Generelle begrensninger

Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som krever spesialisert opplæring i valg av egnede reagenser, valg, fiksering og behandling av vev, klargjøring av IHC-objektglass og tolkning av fargingsresultater.

Vevfargingen er avhengig av håndteringen og behandlingen av vevet før det farges. Uriktig fiksering, dypfrysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, fanging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpsmetoder eller uregelmessigheter i vevet⁴.

Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan hindre riktig tolkning av resultater.

Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er til bruk, som indisert, på enten frosne eller parafininntøpte snitt med spesifikke fikseringskrav. Det kan forekomme uventet antigenuttrykk, spesielt i neoplaser. Den kliniske tolkningen av ethvert farget vevsnett må inkludere morfologisk analyse og evaluering av egnede kontroller.

Bibliografi – generell

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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Endringer på tidligere utgave

I/R

Utstedelsesdato

01 juli 2019

Novocastra Likit Monoklonal Tavşan Antikor S-100 (EP32)

Ürün Kodu: NCL-L-S100-167

Kullanım Amacı

In vitro diagnostik kullanım içindir.

NCL-L-S100-167, parafinli bölümlerde S-100B proteininin ışık mikroskopisiyle niceliksel tanımlanmasında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patoloj tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Prosedür İlkesi

İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, antijene ardışık olarak belirli bir antikorun uygulanması (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikorun uygulanması ve aralardaki yıkama adımları ile, antijenlerin kromojenik substratlı bir enzim kompleksi yoluyla görselleştirilmesine olanak tanır. Kromojenin enzimle etkinleştirilmesi, antijen alanında gözle görülür bir tepkiye yol açar. Örnek daha sonra karşıt boyanabilir ve lamelle örtülebilir. Sonuçlar bir ışık mikroskobu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabilecek veya olmayabilecek patofizyolojik süreçlerin ayrıntı tanısına yardımcı olur.

Clone

EP32

İmmünojen

İnsan S100 Beta proteininin kalıntılarına karşılık gelen sentetik gelen peptid.

Özgüllük

İnsan.

Reaktif Bileşimi

NCL-L-S100-167, prezervatif olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

Ig Sınıfı

Tavşan IgG.

Toplam Protein Konsantrasyonu Total Protein

Lota özgü toplam protein konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 30 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Lota özgü Ig konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

Kullanım Önerileri

Parafin kesitlerinde immünohistokimya.

Isı İndüklü Epitop Alımı (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Novocastra Epitope Retrieval Solution, pH 6 içinde kullanım için lütfen talimatları takip edin.

Önerilen seyretme: 25°C'de 30 dakika süreyle 1:100. Bu, kılavuz olarak verilmiştir ve kullanıcılar kendi optimal çalışma seyrettilerini belirlemelidir.

Görselleştirme: Lütfen Novolink Polymer Detection Systems'in kullanma talimatını izleyin. Ürünle ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisine iletişime geçebilirsiniz ya da bunun yerine Leica Biosystems Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: www.LeicaBiosystems.com

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

Saklama ve Stabilité

2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullandıktan hemen sonra 2–8°C'ye geri alın. Flakon etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

Yukarıda belirtilenler dışında saklama koşulları mutlaka kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Örnek Hazırlama

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

Uyarılar ve Önlemler

Bu reaktif hücre kültürü süpernatantından hazırlanmıştır. Biyolojik bir ürün olduğundan, elleçleme sırasında makul düzeyde dikkatli olunmalıdır.

Bu reaktif sodyum azid içerir. Malzeme Güvenlik Bilgileri Formu talep üzerine sağlanmaktadır ve www.LeicaBiosystems.com sitesinde mevcuttur.

Olası toksik bileşenlerin atılması ile ilgili yerel, bölgesel veya ulusal düzenlemelere başvurun.

Fiksasyondan önce ve sonra örnekler ve onlara maruz kalmış bütün materyaller, enfeksiyon yayabilecekmiş gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak atılmalıdır¹. Reaktifleri hiçbir zaman ağızla pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya numuneler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.

Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada bir artış meydana gelebilir.

Belirtilenler dışında inkübyasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kalite Kontrol

Kullanıcı laboratuvarında doku işleme ve teknik prosedürlerdeki farklılıklar sonuçlarda, aşağıdaki prosedürlere ek olarak kurum içi kontrollerin düzenli performansını gerektiren anlamlı değişkenliğe yol açabilir.

Kontroller, hasta numunesinde/numunelerinde yapıldığı gibi mümkün olan en kısa sürede dondurulan formalinle fikse edilmiş, parafin mumuna gömülmüş, taze otopsi numuneleri/biyopsi numuneleri/cerrahi örnekler olmalıdır.

Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve uygun boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

Her boyama döngüsünde her test koşulu setine bir pozitif doku kontrolü dahil edilmelidir.

Zayıf pozitif boyama yapılmış doku, optimal kalite kontrolü ve minör reaktif bozunma düzeylerini saptamak için güçlü pozitif boyama yapılmış dokudan daha uygundur².

Önerilen pozitif kontrol dokusu bademciktir

Pozitif doku kontrolü pozitif boyama göstermezse test örneklerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Negatif Doku Kontrolü

Primer antikor tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin spesifikliğini doğrulamak için, pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir.

Önerilen negatif kontrol dokusu iskelet kası fiberleridir.

Alternatif olarak, doku kesitlerinin çoğunda bulunan farklı hücre tipi çeşitleri sıklıkla negatif kontrol bölgeleri sunar ancak bu kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Olduğu durumda, spesifik olmayan boyamanın görünümü genelde diffüzdür. Aşırı formalin fiksasyonlu dokulardan elde edilen kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da görülebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanın. Nekrotik veya dejeneren hücreler sıklıkla nonspesifik şekilde boyanır². Proteinler veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünoyolojik olmayan bağlanması nedeniyle yalancı pozitif sonuçlar görülebilir.

Bu sonuçlar ayrıca, kullanılan immün-boyaya bağlı olarak psödoperoksidad (eritrositler), endojen peroksidad (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimlerden de kaynaklanabilir. Endojen enzim aktivitesini veya nonspesifik enzim bağlanması spesifik immünoreaktiviteden ayırmak için ek hasta dokuları sırasıyla sadece substrat kromojen veya enzim kompleksleri (avidin-biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyanma olursa hasta örneklerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Negatif Reaktif Kontrolü

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek ve antijen bölgesinde spesifik boyanmayı daha iyi yorumlayabilmek için her hasta örneği kesitinde primer antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın.

Hasta Dokusu

NCL-L-S100-167 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan herhangi bir arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Her immünohistokimyasal testte olduğu gibi negatif bir sonuç antijenin saptanmadığı anlamına gelir, antijenin miktar tayinine tabi tutulan hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez. Gerekirse yanlış negatif reaksiyonların belirlenmesi için antikor paneli kullanın.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

Klon EP32, çeşitli dokuların nöroektodermal kökenli hücre çekirdeklerinde ve sitoplazmasında S-100 proteinini tespit etti. Sinir fiberlerinde, dentritik hücrelerde, adipositlerde ve makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinin bir kısmında immünoreaktivite gözlemlendi.

Serebrum ve serebellumun parenkimal hücrelerinde, pankreasta Langerhans adacıklarında, tükürük bezlerinin mioepitelyel hücrelerinde, gözün retina hücrelerinde ve memenin mioepitelyel ve duktal hücrelerinde boyama görüldü. (Toplam normal vaka sayısı = 117).

Anormal Dokular

Klon EP32, 20/42 periferik sinir tümörünün (10/12 malignan Schwannoma, 4/4 ganglionöroma, 3/21 malign sinir kılıfı tümörü, 3/4 nörofibroma ve 0/1 primitif nöroektodermal tümör dahil), 9/11 malignan melanomayı boyadı. Sindirim sistemi yolu tümörleri (0/12), meme tümörleri (0/6), akciğer tümörleri (0/6), overyan tümörleri (0/3), servikal tümörler (0/3), endometriyal tümörler (0/3), idrar torbası tümörleri (0/2), böbrek şeffaf hücreli karsinomalar (0/2), prostat adenokarsinomalar (0/1), prostat hiperplazi (0/1) ve derinin skuamöz hücre karsinomu (0/1) dahil olmak üzere çeşitli diğer tümörlerde boyama gözlenmedi. (Değerlendirilen toplam anormal vaka sayısı = 96).

S-100 (EP32), immünoyolojik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye yardımcı olarak normal ve neoplastik dokularda S-100 B proteininin saptanması için önerilir.

Genel Sınırlamalar

İmmünohistokimya; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi, IHC lamının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması alanlarında özel eğitimden oluşan, çok adımlı bir diagnostik süreçtir.

Doku boyama, boyama öncesinde dokunun kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikor tutulmasına veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçların nedeni, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki değişiklikler veya dokunun yapısından kaynaklanan düzensizlikler olabilir².

Aşırı veya tam olmayan karşıt boyama sonuçlarının uygun yorumlanmasını olumsuz etkileyebilir.

Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patoloğ tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd'nin antikorları, belirtilen şekilde, özel fiksasyon gereklilikleriyle parafine gömülü veya dondurulmuş kesitler üzerinde kullanılır. Özellikle neoplazmlarda beklenmeyen antijen ekspresyonu oluşabilir. Boyanmış herhangi bir doku kesitinin klinik yorumu, morfolojik analizi 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Önceki Sayıya Göre Değişiklikler

N/A

Yayın Tarihi

01 Temmuz 2019

Течно заешко моноклонално антитяло Novocastra S-100 (EP32)

Код на продукта: NCL-L-S100-167

Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-S100-167 е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на протеин S-100B 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 спесимена и да се постави покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с използване на оптичен микроскоп и са в помощ при диференциалната диагностика на патолофизиологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

Клонинг

EP32

Имуноген

Синтетичен пептид, съответстващ на остатъците от човешки протеин S100 Beta.

Специфичност

Човешки.

Състав на реагента

NCL-L-S100-167 е течен супернатант от тъканна култура, съдържащ натриев азид като консервант.

Имуноглобулинов клас

Заешки IgG.

Концентрация на общ протеин Total Protein

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

Концентрация на антитела

По-висока или равна на 30 mg/L, както е определено от ELISA. 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): Спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Предложение за разреждане: 1:100 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 уеб сайта на Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com

Работните характеристики на това антитяло трябва да бъдат валидирани 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 може да се получи при поискване или е на разположение от 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 третират като възможни преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки¹. 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 пригответени 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 реагента².

Препоръчителната тъкан за позитивна 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 целевия антиген от първичното анти тяло.

Препоръчителната тъкан за негативна контрола е влакно от скелетен мускул.

Алтернативно, разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъканни 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 неспецифично³. Може да се видят фалшиво положителни 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 имунно оцветяване. За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имунореактивност 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 анти тяло, 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

Изследвайте спесимените на пациенти, оцветени последно с NCL-L-S100-167. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираният клетка/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от анти тила за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Клонинг EP32 открива протеина S-100 в ядрото и цитоплазмата на клетки с невроектодермален произход в множество тъкани. Имунореактивност се наблюдава в нервни влакна, дендритни клетки, адипоцити, както и при известен процент от макрофагите, лимфоцитите и плазмените клетки.

Оцветяване се наблюдава и в паренхимните клетки в главния мозък и малкия мозък, в островните клетки на Лангерханс в панкреаса, в миеоцителните клетки на слючените жлези, в клетките на ретината на око и в миеоцителните и дукталните клетки на гърдата. (Общ брой на нормалните случаи = 117).

Абнормни тъкани

Клонинг EP32 оцветява 20/42 тумора на периферните нерви (включително 10/12 злокачествени шванома, 4/4 ганглионеврома, 3/21 злокачествени тумора на обвивката на периферните нерви, 3/4 неврофиброма и 0/1 примитивни невроектодермални тумора), 9/11 злокачествени меланома. Не се наблюдава оцветяване при редица други тумори, включително тумори на стомашно-чревния тракт (0/12), тумори на гърдата (0/6), тумори на белия дроб (0/6), тумори на яйчиците (0/3), хепатоцелуларни карциноми (0/3), тумори на цервикса (0/3), тумори на ендометриума (0/3), тумори на пикочния мехур (0/2), светлоклетъчни карциноми на бъбреците (0/2), аденокарциноми на простатата (0/1), хиперплазия на простатата (0/1) и плоскоклетъчни карциноми на кожата (0/1). (Общ брой на оценените абнормни случаи = 96).

S-100 (EP32) се препоръчва за откриване на протеин S-100 В в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.

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. Несъвместимите резултати може да са причинени от отклонения във фиксирането и методите на включване в парафина, или от присъщи нередности вътре в тъканта⁴.

Прекаленото или непълно контраоцветяване може да компрометира 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 неоплазми. 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, 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Изменения на предишно издание

Не е приложимо.

Дата на издаване

01 Юли 2019

Novocastra folyékony nyúl monoklonális antitest

S-100 (EP32)

Termékkód: NCL-L-S100-167

Alkalmazási terület

In vitro diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-S100-167 az S-100B fehérje fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegyesítenni, 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 szubsztráttal alkotott komplexének egymás után következő alkalmazásán keresztül, közbeiktatott 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

EP32

Immunogén

A humán S100 béta fehérje maradványainak megfelelő szintetikus peptid.

Specifititás

Humán.

A reagens összetétele

Az NCL-L-S100-167 tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

Ig-osztály

Nyúl IgG

Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

Antitest-koncentráció

Legalább 30 mg/L, ELISA módszerrel meghatározva. A sarzsspecifikus Ig-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémia paraffinos metszeteken.

Hőindukált epitópfeltárás (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Kövesse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 termék használati útmutatóját.

Javasolt hígítás: 1:100, 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. Ha további termékinformációra vagy támogatásra van szüksége, forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a www.LeicaBiosystems.com címen.

Más manuális festési rendszerekkel vagy automata platformokkal való használat esetén validálni kell az antitest teljesítményét.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos lefagyasztani. 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 sejtkultúra felülúszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor ésszerű körültekintéssel kell eljárni.

Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági adatlapot igény esetén rendelkezésre bocsátjuk, illetve elérhető a www.LeicaBiosystems.com weboldalon is.

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 ártalmatlanítani¹. Soha ne pipettázza szájjal a reageneket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagenekkel és a mintákkal. Ha a reagenek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.

Minimálisra 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 eredményekben, 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 paraffiniaszba ágyazni.

Posztív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

Minden tesztelési körülménygyűtes 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 észleléséhez².

A javasolt pozitív kontrollszövet a tonsilla.

Ha a pozitív szövetkontroll nem mutat pozitív festődést, a vizsgált minták eredményeit érvénytelennek 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 vázizomrostok.

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 szórányos festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejteket használjon. A nekrotizált vagy degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg³. 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 (vörösvérsejtek), 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 festhetőek kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimmolekulákkal (avidin-biotin, sztreptavidin, jelölt polimer) és szubsztrát–kromogénnel. Ha a negatív szövetkontroll specifikus festődést mutat, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Negatív reagenskontroll

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

Betegszövet

Az NCL-L-S100-167 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 EP32 klón különböző szövetek neuroektodermális eredetű sejteinek sejtmagjában és citoplazmájában detektálja az S-100 fehérjét. Az immunreaktivitást idegrostokban, dendritikus sejtekben, adipocitákban és a makrofágok, a limfociták és a plazmasejtek bizonyos százalékában figyelték meg.

A festődést a cerebrum és a kisagy parenchimális sejteiben, a hasnyálmirigyben lévő Langerhans-szigetekben, a nyálmirigyek mioepitheliális sejteiben, a szem retinasejteiben és az emlő mioepitheliális és dukális sejteiben is megfigyelték. (Normál esetek összesített száma = 117).

Kóros szövetek

Az EP32 klón megfestett 20/42 perifériás idegtumor (köztük 10/12 rosszindulatú schwannómát, 4/4 ganglionneurómát, 3/21 rosszindulatú perifériásideghüvely-tumort, 3/4 neurofibromát és 0/1 primitív neuroektodermális tumort), 9/11 rosszindulatú melanómát. A festés nem jelentkezett többféle más tumornál, beleértve a következőket: a gasztrointesztinális traktus tumora (0/12), emlőtumor (0/6), tüdőtumor (0/6), petefészek-tumor (0/3), hepatocelluláris karcinóma (0/3), méhnyaktumor (0/3), endometrium-tumor (0/3), húgyhólyagtumor (0/2), világossejtes vesekarcinóma (0/2), prosztata adenokarcinóma (0/1), prosztata hiperplázia (0/1), valamint laphámsejtes bőrkarcinóma (0/1). (Vizsgált kóros esetek összesített száma = 96).

Az S-100 (EP32) az S-100 B fehérje detektálására ajánlott normális és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszöveti eljárások kiegészítéseként.

Általános korlátozások

Az immunhisztokémia több lépésből álló diagnosztikai folyamat, amely a következőket foglalja magában: speciális képzés alapján a megfelelő reagensek 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. A közvetlen eredmények a fixálási vagy beágyazási módszerek tekintetében jelentkező eltéréseknek, illetve a szöveten belül jelentkező eredendő rendellenességeknek tudhatók be⁴.

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

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.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd által biztosított antitestek specifikus fixálási követelmények mellett, az utasításoknak megfelelően fagyasztott vagy paraffinba ágyazott metszeteken történő felhasználásra szolgálnak. Időnként váratlan antigén-expresszió fordulhat elő, különösen daganatok esetében. Bármely festett szövetmetszet 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Tortlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Módosítások az előző változathoz képest

N.A.

Kiadás dátuma

01 július 2019

Novocastra Anticorp monoclonal lichid de iepure

S-100 (EP32)

Cod produs: NCL-L-S100-167

Utilizare prevăzută

Pentru diagnosticare in vitro.

NCL-L-S100-167 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei S-100B 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 istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Principiul procedurii

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

EP32

Imunogen

O peptidă sintetică corespunzând reziduurilor din proteina S100 Beta umană.

Specificitate

Umană.

Compoziția reactivului

NCL-L-S100-167 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

Clasa Ig

IgG iepure.

Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 30 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

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

Diluție sugerată: 1:100 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

Performanța 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

Fixativul recomandat este formalină tamponată neutră 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 poate fi obținută de pe site-ul www.LeicaBiosystems.com

Consultați regulamentele naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurile a oricăror componente cu potențial toxic.

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 deșeurile luând măsurile de precauție adecvate¹. 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 colorației 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 eșantioanele pacientului.

Control țesut pozitiv

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

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

Un țesut cu colorație pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorație pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului².

Controlul de țesut pozitiv recomandat este de amigdale

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

Control țesut negativ

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

Controlul de țesut negativ recomandat este cel de fibre de mușchi scheletic.

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 nespecific³. 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 enzimactice (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 nespecific 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 colorației specifice la situl antigenului.

Țesutul pacientului

Examinați speciimenele pacientului colorate cu NCL-L-S100-167 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fundal 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 panel de anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

Rezultate așteptate

Țesuturi normale

Clona EP32 detectează proteina S-100 în nucleul și citoplasma celulelor de origine neuroectodermică într-o varietate de țesuturi.

S-a observat imunoreactivitate în fibrele nervoase, celulele dendritice, adipocite și într-un procentaj de macrofage, limfocite și celule plasmactice.

S-a observat, de asemenea, colorare în celulele parenchimale din encefal și cerebel, insulele Langerhans din pancreas, celulele mioepiteliale ale glandelor salivare, celulele retinale ale ochiului și celulele mioepiteliale și ductale ale sânilor. (Numărul total al cazurilor normale = 117).

Țesuturi anormale

Clona EP32 a colorat 20/42 tumori de nervi periferici (inclusiv 10/12 schwannome maligne, 4/4 ganglioneuroame, 3/21 tumori maligne de învelșuri de nervi periferici, 3/4 neurofibroame și 0/1 tumori neuroectodermice primitive), 9/11 melanoame maligne. Nu s-a detectat colorare în alte diferite tumori, cum ar fi tumorile tubului GI (0/12), tumori mamare (0/6), tumori pulmonare (0/6), tumori ovariene (0/3), carcinoame hepatocelulare (0/3), tumori cervicale (0/3), tumori endometriale (0/3), tumori vezicale (0/2), carcinoame renale cu celule clare (0/2), adenocarcinoame ale prostatei (0/1), hiperplazie de prostată (0/1) și carcinoame ale pielii cu celule scuamoase (0/1). (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 96).

S-100 (EP32) este recomandată pentru detectarea proteinei S-100 B în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochemici non-immunologici.

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 lamelei 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 inconsecvente pot fi atribuite diferențelor în ceea ce privește metodele de fixare și încorporare, ori neregularităților inerente ale țesutului⁴.

Contracolorarea 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 istoricului clinic al 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 expresia neașteptată a antigenului, în special în neoplasme. 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. *American Journal of Cancer Research* 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2015; 23(1):1-18

Amendamente la ediția anterioară

Nu este disponibil.

Data publicării

01 iulie 2019

Жидкая форма моноклональных антител кролика Novocastra S-100 (EP32)

Код продукта: NCL-L-S100-167

Предусмотренное применение

Для диагностики in vitro

Препарат NCL-L-S100-167 предназначен для качественного определения протеина S-100B 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

EP32

Иммуноген

Синтетический пептид, соответствующий аминокислотным остаткам S100 бета-протеина человека.

Специфичность

Человеческого происхождения.

Состав реактива

NCL-L-S100-167 является супернатантом жидкой культуры тканей, содержащим азид натрия в качестве консерванта.

Класс иммуноглобулинов

Иммуноглобулин G кролика.

Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 30 мг/л при определении методом ИФА. 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: 1:100 в течение 30 минут при температуре 25 °С. Данная информация носит рекомендательный характер, и пользователям следует самостоятельно определять оптимальные рабочие разведения.

Визуализация: Выполняйте инструкцию по применению, прилагаемую к Novolink Polymer Detection Systems. За дополнительной информацией об этом продукте и поддержке обращайтесь к своему местному дистрибьютору или региональному офису компании Leica Biosystems, либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.

Если данные антитела используются с другими автоматизированными платформами или системами для окрашивания образцов, которое выполняется вручную, их характеристики следует валидировать.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживать. Немедленно после применения вернуть на хранение при 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

По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или 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 предосторожности¹. 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 внутрилабораторных контролей в дополнении 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 окрашиванием².

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 использовать волокна скелетных мышц.

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 неспецифически³. 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 иммунореактивности, 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

Используйте неспецифический отрицательный контроль реактива вместо первичного антитела на срезе каждого полученного у пациента образца с целью оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания в месте расположения антигена.

Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы взятой у пациента ткани, которые окрашены с помощью NCL-L-S100-167, в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания отрицательного контроля реактива. 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 EP32 обнаружил белок S-100 в ядрах и цитоплазме клеток нейроэктодермальной природы в различных тканях.

Иммунореактивность наблюдалась в нервных волокнах, дендритных клетках, адипоцитах и частично в макрофагах, лимфоцитах и клетках плазмы.

Окрашивание также наблюдалось в паренхиматозных клетках мозга и мозжечка, в островках Лангерганса в поджелудочной железе, в миозитиальных клетках слюнной железы, в клетках сетчатки глаза, а также в миозитиальных и протоковых клетках молочной железы. (Общее число нормальных образцов = 117).

Патологически измененные ткани

Клон EP32 окрасил 20/42 случаев опухоли периферийных нервов (включая 10/12 случаев злокачественной шванномы, 4/4 случаев ганглионевромы, 3/21 случаев злокачественной опухоли оболочек периферических нервов, 3/4 случаев нейрофибромы и 0/1 случая примитивной нейроэктодермальной опухоли), 9/11 случаев злокачественной меланомы.

Окрашивания не обнаружено в ряде других тканей, включая опухоли ЖКТ (0/12), опухоли молочной железы (0/6), опухоли легких (0/6), опухоли яичников (0/3), гепатоцеллюлярные карциномы (0/3), опухоли шейки матки (0/3), опухоли эндометрия (0/3), опухоли мочевого пузыря (0/2), светлоклеточные карциномы почек (0/2), аденокарциному простаты (0/1), гиперплазию простаты (0/1), а также плоскоклеточную карциному кожи (0/1). (Общее число исследованных патологически измененных образцов = 96).

S-100 (EP32) рекомендуется для обнаружения S-100 В-протеина в здоровых и пораженных опухолью тканях в качестве дополнения к стандартным гистопатологическим исследованиям с применением неиммунного гистохимического окрашивания.

Предусмотренное применение 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. Непостоянство результатов может быть связано с различиями методов фиксации и заливки или с присущей тканям внутренней неравномерностью структуры⁴.

Избыточное или неполное контрастное окрашивание может привести к неправильной 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. 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Дополнения к предыдущему выпуску

Н/Д

Дата выпуска

01 Июль 2019

Płynne królicze przeciwciało monoklonalne Novocastra S-100 (EP32)

Kod produktu: NCL-L-S100-167

Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Preparat NCL-L-S100-167 jest przeznaczony do jakościowej identyfikacji za pomocą mikroskopii świetlnej białka S-100B w skrawkach parafinowych. Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocena powinna być przeprowadzona przez wykwalifikowanego patologa 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

EP32

Immunogen

Syntetyczny peptyd odpowiadający pozostałości ludzkiego białka S100 Beta.

Swoistość

Człowiek.

Skład odczynnika

NCL-L-S100-167 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zakonserwowanym azydkiem sodu.

Klasa Ig

Królicze IgG.

Całkowite stężenie białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiolki.

Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 30 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA. Stężenie Ig (immunoglobuliny) w danej serii podano na etykiecie fiolki.

Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

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

Sugerowane rozcieńczenie: 1:100 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 pomocy należy kontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems lub odwiedzić stronę firmy Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.

Jeżeli przeciwciało jest używane jednocześnie z innymi ręcznymi metodami barwienia lub platformami automatycznymi, należy zweryfikować jego działanie.

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 fiolki.

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 azyd sodu. Karta charakterystyki jest udostępniana na żądanie lub można ją pobrać ze strony 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 ostrożności¹. 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 pozytywnym².

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 włókna mięśni szkieletowych.

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 niespecyficzne barwienie³. Wyniki fałszywie dodatnie mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub 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 pobrane od pacjenta barwione NCL-L-S100-167 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 EP32 wybarwił białko S-100 w jądrach komórek w jądrze i cytoplazmie komórek pochodzenia neuroektodermalnego w różnych tkankach. Immunoreaktywność obserwowano we włóknach nerwowych, komórkach dendrytycznych, adipocytach i odsetku makrofagów, limfocytów i komórek plazmatycznych.

Barwienie zaobserwowano także w komórkach mięszsowych w mózgu i móżdżku, w wysepkach Langerhansa w trzustce, komórkach mioepitelialnych gruczołów ślinowych, komórkach siatkówki oka i komórkach mioepitelialnych i przewodowych sutka. (Łączna liczba prawidłowych przypadków = 117).

Tkanki nieprawidłowe

Klon EP32 wybarwił 20/42 guzy nerwów obwodowych (w tym 10/12 złośliwych nerwiaków ostonkowych, 4/4 nerwiaki zwojowe, 3/21 złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych, 3/4 nerwiakowlókniaki i 0/1 prymitywnych guzów neuroektodermalnych), 9/11 czerniaków złośliwych. Nie stwierdzono barwienia w innych nowotworach, w tym w nowotworach przewodu pokarmowego (0/12), guzach sutka (0/6), guzach płuc (0/6), guzach jajników (0/3), rakach wątrobowokomórkowych (0/3), nowotworach szyjki macicy (0/3), guzach endometriumu (0/3), guzy pęcherza moczowego (0/2), rakach jasnokomórkowych nerki (0/2), gruczołakorakach gruczołu krokowego (0/1), przerzście gruczołu krokowego (0/1) i raku płaskonabłonkowego skóry (0/1). (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 96).

Zaleca się stosowanie S-100 (EP32) do wykrywania białka S-100 B w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.

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 zatapiań lub z powodów nieprawidłowości samej tkanki¹.

Nadmierne lub niepełne barwienie ujemne może pogarszać 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 antygenu, 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. 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Tortlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

n/d

Data publikacji

01 lipca 2019

Tekoče kunčje monoklonsko protitelo Novocastra S-100 (EP32)

Koda izdelka: NCL-L-S100-167

Predvidena uporaba

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Izdelek NCL-L-S100-167 je namenjen za kvalitativno identifikacijo proteina S-100B 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 krovnim 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

EP32

Imunogen

Sintetični peptid, ki ustreza ostankom v humanem beta proteinu S100.

Specifičnost

Humani.

Sestava reagenta

NCL-L-S100-167 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje natrijev azid kot konzervans.

Razred Ig

Kunčji IgG.

Skupna koncentracija beljakovin Total Protein

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

Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 30 mg/L, določena s testom ELISA. Glejte oznako na viali za koncentracijo Ig določene serije.

Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

Toplotno pridobivanje epitopa (Heat Induced Epitope Retrieval HIER): Upoštevajte navodila za uporabo raztopine za pridobivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Predlagano redčenje: 1 : 100, 30 minut pri 25 °C. To so samo smernice; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne razredčine.

Vizualizacija: Upoštevajte navodila za uporabo sistemov za zaznavanje polimerov Novolink Polymer Detection Systems. Za več podatkov o izdelku ali podporo se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno podjetja Leica Biosystems, lahko pa tudi obiščete spletno mesto podjetja Leica Biosystems na 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 spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com.

Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno 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 ukrepom¹. 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 mikrobnega 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 obarvanjem².

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

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

Za negativno kontrolo tkiva priporočamo tkivo vlaken skeletnih mišic.

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 nespecifično³. 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 kromogenskim substratom ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) in kromogenskim 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-S100-167. 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 EP32 je zaznal protein S-100 v jedru in citoplazmi celic nevroektodermalnega izvora v različnih tkivih. Imunoreaktivnost so opazili v živčnih vlaknih, dendritskih celicah, adipocitih in pri določenem odstotku makrofagov, limfocitov in plazemskih celic.

Obarvanje so zaznali tudi v parenhimskih celicah velikih in malih možganov, Langerhansovih otočkah trebušne slinavke, mioepitelijskih celicah žlez slinavk, celicah očesne mrežnice ter mioepitelijskih in duktalnih celicah dojk. (Skupno število normalnih primerov = 117).

Neormalna tkiva

Klon EP32 je obarval 20/42 tumorjev perifernega živčevja (vključno z 10/12 malignih Schwanomov, 4/4 ganglionevromov, 3/21 malignih tumorjev ovojnic perifernega živčevja, 3/4 nevrofibromov in 0/1 primitivnega nevroektodermalnega tumorja) ter 9/11 malignih melanomov. Obarvanja niso zaznali pri različnih drugih tumorjih, vključno s tumorji prebavnega trakta (0/12), tumorji dojke (0/6), pljučnimi tumorji (0/6), tumorji jajčnikov (0/3), tumorji jetrnih celic (0/3), tumorji materničnega vratu (0/3), tumorji endometrija (0/3), tumorji sečnega mehurja (0/2), jasnoceličnimi karcinomi ledvic (0/2), adenokarcinomom prostate (0/1), hiperplazijo prostate (0/1) in ploščatoceličnim kožnim karcinomom (0/1). (Skupno število ocenjenih neormalnih primerov = 96).

Izdelek S-100 (EP32) se priporoča za zaznavanje proteina S-100 B v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih barvil.

Spološne 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 povzroči 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 samega⁴.

Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno razlago rezultatov.

Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. *American Journal of Cancer Research* 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2015; 23(1):1-18

Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji

Ni relevantno.

Datum izdaje

01 julij 2019

Tekutá králičí monoklonální protilátka Novocastra S-100 (EP32)

Kód výrobku: NCL-L-S100-167

Zamýšlené použití

Pro diagnostické použití in vitro.

Přípravek NCL-L-S100-167 je určen ke kvalitativnímu stanovení proteinu S-100B světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoli 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.

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

EP32

Imunogen

Syntetický peptid odpovídající zbytkům lidského beta proteinu S100.

Specifická

Lidé.

Složení reagensie

NCL-L-S100-167 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

Třída Ig

Králičí IgG.

Koncentrace celkového proteinu Total Protein

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

Koncentrace protilátek

30 mg/L nebo vyšší, stanovená metodou ELISA. 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 roztoku Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Doporučené ředění: 1:100 po dobu 30 minut při 25 °C. Toto doporučení je uvedeno jako vodítko; uživatelé musí stanovit vlastní optimální pracovní ředění.

Vizualizace: Postupujte podle pokynů k použití systémů Novolink Polymer Detection Systems. Další informace o produktu nebo podporu si vyžádejte od místního distributora nebo regionální kanceláře společnosti Leica Biosystems, případně můžete navštívit webové stránky Leica Biosystems, 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 prostředí s teplotou 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 reagensie byla připravena ze supernatantu z buněčné kultury. Protože jde o biologický produkt, je nutno manipulaci s ní věnovat náležitou pozornost.

Tato reagensie obsahuje azid sodný. Bezpečnostní list materiálu je k dispozici na požádání nebo na webu 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 opatřeními¹. Reagensie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagensií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagensie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensií, 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 parafínového vosku, stejným způsobem jako vzorek/vzorky pacienta.

Pozitivní 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 reagentie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením².

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je tonzila

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

Negativní tkáňová kontrola

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

Doporučená negativní tkáňová kontrola jsou vlákna kosterního svalu.

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 formálinem může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky². Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakčního 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 tkáně 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-S100-167. 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/tkáních přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

Očekávané výsledky

Normální tkáně

Klon EP32 detekuje protein S-100 v jádru a cytoplasmatu buněk neuroektodermálního původu v různých tkáních. Imunoreaktivita byla pozorována u nervových vláken, dendritických buněk a části makrofágů, lymfocytů a plazmatických buněk.

Barvení bylo rovněž pozorováno u parenchymálních buněk v mozku, mozečku, v Langerhansových ostrůvčcích v slinivce, myoepteliálních buňkách slinné žlázy, buňkách sitnice oka a myoepteliálních a dukálních buňkách prsu. (Celkový počet normálních tkání = 117).

Abnormální tkáně

Klon EP32 barví 20/42 nádorů periferních nervů (včetně 10/12 maligních schwannomů, 4/4 ganglioneurómů, 3/21 maligních nádorů pochev periferních nervů, 3/4 neurofibromů a 0/1 primitivního neuroektodermálního nádoru), 9/11 maligních melanomů. Barvení nebylo pozorováno u různých dalších nádorů včetně nádorů gastrointestinálního traktu (0/12), nádorů prsu (0/6), nádorů plic (0/6), nádorů vaječníků (0/3), hepatocelulárních karcinomů (0/3), nádorů děložního hrdla (0/3), endometriálních nádorů (0/3), nádorů močového měchýře (0/2), světlóbuňkových karcinomů ledvin (0/2), adenokarcinomů prostaty (0/1), hyperplazie prostaty (0/1) a dladicobuněčných karcinomů kůže (0/1). (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 96).

Protilátka S-100 (EP32) se doporučuje k detekci proteinu S-100 B v normálních a neoplastických tkáních, jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.

Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je vícekrokový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagensů; 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 konzervančním médiu, nebo přirozených odchylek ve tkáních.

Nadměrně nebo nedostatečně kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

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.

Protilátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají, jak bylo uvedeno, u zmrazených nebo v parafínu zalitých řezů ze specifických požadavků na fixaci. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoli barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfologickou 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Torlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Opravy předchozího vydání

N/A

Datum vydání

01 červenec 2019

Tekutá králičia monoklonálna protilátka Novocastra S-100 (EP32)

Kód produktu: NCL-L-S100-167

Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-S100-167 slúži na kvalitatívnu identifikáciu proteínu S-100B 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

EP32

Imunogén

Syntetické peptid zodpovedajúci reziduám ľudského proteínu S100 beta.

Špecificita

Ľudské.

Zloženie činidla

NCL-L-S100-167 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

Trieda Ig

Králičie IgG.

Celková koncentrácia proteínov

Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 30 mg/L podľa ELISA. Koncentráciu Ig špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

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

Odporúčané riešenie: 1 : 100 po dobu 30 minút pri teplote 25 °C. Táto hodnota je orientačná, používatelia si musia stanoviť svoje vlastné optimálne pracovné riešenia.

Vizualizácia: Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink Polymer Detection Systems. Ďalšie informácie o produkte alebo podporu vám poskytne miestny distribútor alebo lokálne zastúpenie spoločnosti Leica Biosystems. Takisto môžete navštíviť internetovú stránku spoločnosti Leica Biosystems: 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

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

So vzorkami z 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 opatrení¹. 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. Vyhľadajte lekársku pomoc.

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

Nedodržanie predpisovaných inkubačných dôb 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 pitevné/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 zafarbením je pre optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym zafarbením².

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 špecifickosť značenia cieľového antigénu primárnou protilátkou.

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu je kostrový sval.

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 nešpecificky³. Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu.

Môžu byť spôsobené aj endogénnymi enzýmami ako napr. pseudoperoxidáza (erytrocyty), endogénna peroxidáza (cytochróm C) alebo endogénny biotín (napr. pečeň, 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-S100-167 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho zafarbenia 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. Nepotvrďuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Klon EP32 detegoval proteín S-100 v jadre a cytoplazme buniek neuroektodermálneho pôvodu rôznych tkanív. Imunoreaktivita bola pozorovaná v nervových vláknoch, dendritických bunkách, adipocytoch a v percente makrofágov, lymfocytov a plazmatických buniek.

Zafarbenie bolo takisto pozorované v parenchymatických bunkách v mozgu a mozočku, ostrovcokoch Langerhansových buniek v pankrease, myoepitelových bunkách slinných žliaz, sieťnicových bunkách oka a myoepitelových a dukálnych bunkách prsníka. (Celkový počet normálnych prípadov = 117).

Abnormálne tkanivá

Klon EP32 zafarbil 20/42 nádorov periférnych nervov (vrátane 10/12 maligných schwannómov, 4/4 ganglioneurómov, 3/21 maligných nádorov periférnych nervových puzdiel, 3/4 neurofibrómov a 0/1 primitívneho neuroektodermálneho nádoru), 9/11 maligných melanómov. Nezistilo sa žiadne zafarbenie pri rôznych ďalších nádoroch vrátane nádorov gastrointestinálneho traktu (0/12), nádorov prsníka (0/6), pľúcnych nádorov (0/6), nádorov vaječníkov (0/3), hepatocelulárnych karcinómov (0/3), cervikálnych nádorov (0/3), nádorov endometria (0/3), nádorov močového mechúra (0/2), svetlobunkových karcinómov obličky (0/2), adenokarcinómov prostaty (0/1), hyperplázie prostaty (0/1) a skvamocelulárneho karcinómu kože (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 96).

S-100 (EP32) sa odporúča na detekciu proteínu S100 B v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.

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, premyvávanie, sušenie, ohrievanie, narezanie alebo kontaminácia inými tkanivami či tekutinami môžu viesť

k vzniku artefaktov, záchytu protilátok alebo falošne negatívnym výsledkom. Nekonzistentné výsledky môžu byť spôsobené zmenami metód fixácie a zalievania alebo vnútornými nerovnomernosťami v tkanive⁴.

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.

Protilátky 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. 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. Chen H, Xu C, Jin Q et al. S100 protein family in human cancer. American Journal of Cancer Research 2014;4(2):89-115
6. Tortlakovic EE, Nielsen S, Francis G et al. Standardization of Positive Controls in Diagnostic Immunohistochemistry. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 2015; 23(1):1-18

Úpravy predchádzajúceho vydania

N/A

Dátum vydania

01 júl 2019

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
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