

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Multi-Cytokeratin



**Product Code: NCL-L-AE1/AE3**

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



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

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

Veillez lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per l'uso

Si prega di leggere prima di utilizzare questo prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor Verwendung des Produkts lesen.

## Instrucciones de uso

Lea estas instrucciones antes de utilizar el producto.

## Instruções de utilização

Leia antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε πριν χρησιμοποιήσετε αυτό το προϊόν.

## Brugsanvisning

Læs venligst, før du bruger dette produkt.

## Gebruiksaanwijzing

Lees voor het gebruik van dit product deze informatie.

## Bruksanvisning

Les før bruk av dette produktet.

## Kullanım Talimatları

Bu ürünü kullanmaya başlamadan önce lütfen okuyun.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете, преди да използвате този продукт.

## Használati útmutató

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instruçiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja stosowania

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Přečtěte prosím před použitím tohoto produktu.

## Návod na použitie

Pred použitím produktu si ho prečítajte.

## إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

## Check the integrity of the packaging before use.

Vérifiez l'intégrité de l'emballage avant emploi.

Controllare l'integrità della confezione prima dell'uso.

Die Integrität der Verpackung vor der Verwendung sicherstellen.

Compruebe la integridad del embalaje antes de su uso.

Garanta a integridade da embalagem antes de utilizar.

Kontrollera förpackningens integritet före användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller emballagens integritet inden brug.

Controleer voor gebruik of de verpakking niet is beschadigd.

Kontroller integriteten til emballasjen før bruk.

Kullanmaya başlamadan önce paketin sağlam olduğunu 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.

Pred použitím skontrolujte neporušenost balenia.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Multi-Cytokeratin

## Product Code: NCL-L-AE1/AE3

### Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-AE1/AE3 is intended for the qualitative identification by light microscopy of cytokeratin molecules in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

### Principle of Procedure

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

### Clone

Cocktail of two clones, AE1 and AE3, mixed to a ratio of 20:1.

### Immunogen

Human epidermal cytokeratin preparation.

### Specificity

Clone AE1 recognizes the 56.5, 50, 50', 48 and 40 kD human cytokeratins of the acidic subfamily.

Clone AE3 recognizes 65 to 67, 64, 59, 58, 56 and 52 kD of the basic subfamily.

### Reagent Composition

NCL-L-AE1/AE3 is a liquid mouse ascitic fluid purified by protein A chromatography diluted in phosphate-buffered saline (pH 7.6) with 1% bovine serum albumin carrier protein containing sodium azide as a preservative.

### Ig Class

AE1, IgG1

AE3, IgG1

### Total Protein Concentration

Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

### Antibody Concentration

Greater than or equal to 142.8 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for batch specific Ig concentration.

### Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

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

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

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

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

### Storage and Stability

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

### Specimen Preparation

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

### Warnings and Precautions

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

This reagent contains sodium azide. A Material Safety Data Sheet is available upon request or available from [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

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

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

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

## Quality Control

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

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

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

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

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

Recommended positive control tissue is skin.

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.

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

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

## Negative Reagent Control

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

## Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-AE1/AE3 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

Clones AE1/AE3 exhibit a broad reactivity with the acidic and basic families of cytokeratin. Staining was observed in the cytoplasm of epithelial cells from a variety of tissues, including glandular epithelium of prostate, breast, skin, thyroid, endometrium, adrenal gland, testis, pancreas and salivary gland, and squamous and columnar epithelium of skin, tonsil, cervix, esophagus, larynx, stomach, and small and large intestine. Staining was also noted in pituitary gland, Hassall's corpuscles and reticulum in the thymus, alveoli and pneumocytes in the lung, tubules of the kidney, and in bile ducts and hepatocytes of the liver.

(Total number of normal tissues evaluated= 109).

### Abnormal Tissues

Clones AE1/AE3 stained 70/71 breast tumors (including 50/51 invasive ductal carcinomas, 8/8 medullary carcinomas, 8/8 invasive lobular carcinomas and 4/4 ductal-lobular mixed carcinomas), 5/5 adenocarcinomas of the gallbladder, 3/3 squamous cell carcinomas of the esophagus, 3/3 adenocarcinomas of the stomach, 3/3 adenocarcinomas of the lung, 3/3 adenocarcinomas of the pancreas, 2/3 adenocarcinomas of the colon, 3/3 transitional cell carcinomas of the bladder, 3/3 squamous cell carcinomas of the cervix, 2/3 astrocytomas, 2/2 papillary carcinomas of the thyroid, 2/2 adenocarcinomas of the prostate and 0/3 renal clear cell carcinomas.

(Total number of abnormal cases evaluated = 107).

**NCL-L-AE1/AE3 is recommended for the detection of cytokeratins 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 tissue.<sup>4</sup>

Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

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

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

## **Bibliography - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## **Amendments to Previous Issue**

Reagent Composition, Total Protein Concentration, Antibody Concentration, Recommendations on Use, Warnings and Precautions, Results Expected.

## **Date of Issue**

31 May 2019.

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal Liquide de Souris Multi-Cytokeratin

## Référence du Produit: NCL-L-AE1/AE3

### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-AE1/AE3 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la molécules cytotkeratin sur des coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

### Principe de la Procédure

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

### Clone

Mélange de deux clones, AE1 et AE3, dans un rapport de 20:1.

### Immunogène

Préparation de cytotkératine épidermique humaine.

### Spécificité

Le clone AE1 reconnaît les cytotkératines humaines 56.5, 50, 50', 48 et 40 kD de la sous-famille acide.

Le clone AE3 reconnaît les cytotkératines humaines 65 à 67, 64, 59, 58, 56 et 52 kD de la sous-famille basique.

### Composition du Réactif

NCL-L-AE1/AE3 est un fluide ascitique liquide de souris purifié par chromatographie d'affinité sur protéine A dans un tampon phosphate salin (pH 7,6) avec 1 % de protéine de transport d'albumine de sérum bovin contenant de l'azoture de sodium comme conservateur.

### Classe d'Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

### 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 142,8 mg/l, déterminée par ELISA. La concentration totale en Ig, spécifique au lot, figure sur l'étiquette du flacon.

### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Récupération d'épitopes induites par la chaleur (HIER) :** S'il vous plaît suivre les instructions pour utilisation dans Novocastra Epitope Retrieval Solution pH6.

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

**Visualisation :** Veuillez respecter le mode d'emploi des Novolink™ Polymer Detection Systems. Pour 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](http://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

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

### Préparation des Spécimens

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

### Mises en Garde et Précautions

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

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

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

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

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

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

### Contrôle de Qualité

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

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

### Tissu de Contrôle Positif

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

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

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

Le tissu de contrôle positif recommandé est la peau.

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

### Tissu de Contrôle Négatif

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

Les muscles squelettiques constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

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

S'il est présent, le marquage non spécifique prend habituellement une apparence diffuse. Un marquage sporadique du tissu conjonctif peut également être observé sur des coupes de tissus qui ont été fixées par un excès de formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats du marquage. Les cellules nécrotiques ou dégénérées sont souvent marquées de façon non spécifique.<sup>3</sup>

Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique à des protéines ou à des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (foie, sein, cerveau, rein, par exemple) selon le type d'immunomarquage utilisé. Pour différencier l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être marqués exclusivement avec le substrat chromogène ou par des complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) et le substrat chromogène respectivement. Si un marquage spécifique se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats des spécimens du patient doivent être considérés comme invalides.

### Réactif de Contrôle Négatif

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

### Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-AE1/AE3 en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

### Résultats Attendus

#### Tissus normaux

Les clones AE1/AE3 présentent une réactivité générale avec les deux familles de cytokératines, les cytokératines acides et basiques. Une coloration a été observée dans le cytoplasme des cellules épithéliales de divers tissus, dont l'épithélium glandulaire de la prostate, les seins, la peau, la thyroïde, l'endomètre, la glande surrénale, les testicules, le pancréas et la glande salivaire ainsi que l'épithélium squameux et colonnaire, de la peau, des amygdales, de l'utérus, de l'œsophage, du larynx, de l'estomac, de l'intestin grêle et le gros intestin. Une coloration a également été constatée dans l'hypophyse, les corpuscules de Hassall et le réticulum dans le thymus, les alvéoles et les pneumocytes du poumon, les tubules du rein et dans les canaux biliaires et les hépatocytes du foie. (Nombre total de tissus normaux évalués = 109).

#### Tissus tumoraux

Les clones AE1/AE3 ont coloré 70/71 tumeurs du sein (dont 50/51 carcinomes canauxaires invasifs, 8/8 carcinomes médullaires, 8/8 carcinomes lobulaires invasifs et 4/4 carcinomes mixtes canalo-lobulaires), 5/5 adénocarcinomes de la vésicule biliaire, 3/3 carcinomes à cellules squameuses de l'œsophage, 3/3 adénocarcinomes de l'estomac, 3/3 adénocarcinomes du poumon, 3/3 adénocarcinomes du pancréas, 2/3 adénocarcinomes du colon, 3/3 carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie, 3/3 carcinomes à cellules squameuses du col de l'utérus, 2/3 astrocytomes, 2/2 carcinomes papillaires de la thyroïde, 2/2 adénocarcinomes de la prostate et 0/3 carcinomes du rein à cellules claires. (Nombre total de cas anormaux évalués = 107).

**Le NCL-L-AE1/AE3 est recommandé pour la détection des cytokératines dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément de 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.

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

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

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

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

## Bibliographie Générale

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

Composition du réactif, Concentration totale en protéines, Concentration en anticorps, Recommandations d'usage, Avertissements et Précautions, Résultats attendus.

## Date de Publication

31 mai 2019



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido

## Multi-Cytokeratin

### Codice Del Prodotto: NCL-L-AE1/AE3

#### Uso Previsto

*Per uso diagnostico in vitro.*

NCL-L-AE1/AE3 è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica della molecole cytocheratin, in sezioni incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

#### Principio Della Procedura

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

#### Clone

Cocktail di due cloni, AE1 e AE3, miscelati in proporzione 20:1.

#### Immunogeno

Preparazione di citocheratina epidermica umana.

#### Specificità

Il Clone AE1 riconosce le citocheratine umane da 56,5, 50, 50', 48 e 40 kD, appartenenti alla sottofamiglia delle citocheratine acide.

Il clone AE3 riconosce quelle da 65-67, 64, 59, 58, 56 e 52 kD, appartenenti alla sottofamiglia delle citocheratine basiche.

#### Composizione Del Reagente

NCL-L-AE1/AE3 è un liquido ascitico murino, purificato mediante cromatografia su proteina A, diluito in tampone fosfato salino (pH 7,6) con l'1% di proteina albumina di siero bovino contenente azoturo di sodio come conservante.

#### Classe Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### Concentrazione Proteica Totale Total Protein

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

#### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 142,8 mg/l, come determinato mediante test ELISA. Consultare l'etichetta del flaconcino per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

#### Raccomandazioni Per L'uso

Immunostochimica su sezioni in paraffina.

**Smascheramento termindotto dell'epitopo (HIER):** si raccomanda di seguire le istruzioni per l'uso di Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluizione consigliata:** 1:200 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 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](http://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. Immediatamente dopo l'uso, raffreddare di nuovo a 2–8 °C. Non usare dopo la data di scadenza, indicata sull'etichetta del flacone. Condizioni di conservazione diverse da quelle sopra specificate vanno verificate dall'utente.

#### Preparazione Del Campione Biologico

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

#### Avvertenze E Precauzioni

Questo reagente è stato preparato dal supernatante di coltura cellulare. Trattandosi di un prodotto biologico, va maneggiato con cautela.

Questo reagente contiene azoturo di sodio. È disponibile su richiesta una scheda di sicurezza oppure sul sito [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

Prima e dopo la fissazione, i campioni biologici e tutti i materiali ad essi esposti vanno trattati come potenzialmente infettanti e smaltiti con le appropriate precauzioni.<sup>1</sup> Non pipettare i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con zone sensibili, sciacquare abbondantemente le parti interessate. Consultare il medico.

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

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

### **Controllo Qualità**

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

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

### **Controllo Positivo Del Tessuto**

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

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

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

Il tessuto raccomandato per il controllo positivo è la cute.

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

### **Controllo Negativo Del Tessuto**

Va esaminato dopo il controllo positivo, per verificare la specificità nei confronti dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario. Il tessuto raccomandato per il controllo negativo è il muscolo scheletrico.

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

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

### **Controllo Negativo Del Reagente**

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

### **Tessuto Del Paziente**

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-AE1/AE3. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunoistochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

### **Risultati Attesi**

#### Tessuti normali

I cloni AE1/AE3 mostrano un'ampia reattività con le famiglie di citocheratine acide e basiche. È stata osservata colorazione nel citoplasma delle cellule epiteliali di una varietà di tessuti, tra cui l'epitelio ghiandolare di prostata, seno, pelle, tiroide, endometrio, surrene, testicoli, pancreas e ghiandole salivari, e l'epitelio squamoso e colonnare di pelle, tonsille, cervice, esofago, laringe, stomaco e intestino tenue e crasso. Colorazione è stata osservata anche nell'ipofisi, nel reticolo e nei corpuscoli di Hassal del timo, negli alveoli e negli pneumociti del polmone, nei tubuli del rene e nei dotti biliari e negli epatociti del fegato. (Numero totale di tessuti normali esaminati = 109).

#### Tessuti tumorali

I cloni AE1/AE3 hanno colorato 70 di 71 tumori della mammella (compresi 50 di 51 carcinomi duttali invasivi, 8 di 8 carcinomi midollari, 8 di 8 carcinomi invasivi lobulari e 4 di 4 carcinomi misti duttali-lobulari), 5 di 5 adenocarcinomi della cistifellea, 3 di 3 carcinomi a cellule squamose dell'esofago, 3 di 3 adenocarcinomi dello stomaco, 3 di 3 adenocarcinomi del polmone, 3 di 3 adenocarcinomi del pancreas, 2 di 3 adenocarcinomi del colon, 3 di 3 carcinomi a cellule transizionali della vescica, 3 di 3 carcinomi a cellule squamose della cervice, 2 di 3 atrociomi, 2 di 2 carcinomi papillari della tiroide, 2 di 2 adenocarcinomi della prostata e 0 di 3 carcinomi a cellule chiare del rene. (Numero totale di casi anomali esaminati = 107).

**L'uso di NCL-L-AE1/AE3 è consigliato per il rilevamento delle citocheratine in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.**

## Limitazioni Generali

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

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

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

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

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

## Riferimenti Bibliografici Di Base

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

## Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

Composizione del reagente, Concentrazione proteica totale, Concentrazione anticorpale, Raccomandazioni per l'uso, Avvertenze e precauzioni, Risultati attesi.

## Data Di Pubblicazione

31 maggio 2019

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper Multi-Cytokeratin Produkt-Nr.: NCL-L-AE1/AE3

## Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-AE1/AE3 ist für den qualitativen Nachweis der cytokeratin-Moleküle in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie gedacht. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

## Verfahrensgrundlage

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

## Klon

Cocktail aus den beiden Klonen AE1 und AE3 im Verhältnis von 20:1 gemischt.

## Immunogen

Humane epidermale Zytokeratin-Präparation.

## Spezifität

Klon AE1 weist die humanen Zytokeratine mit 56,5, 50, 48 und 40 kDa der sauren Unterfamilie nach.

Klon AE3 weist die Zytokeratine mit 65 bis 67, 64, 59, 58, 56 und 52 kDa der basischen Unterfamilie nach.

## Reagenzzusammensetzung

NCL-L-AE1/AE3 ist ein flüssiger Maus-Aszites, der durch Protein A-Chromatografie gereinigt und in mit Natriumazid als Konservierungsmittel enthaltener phosphatgepufferter Salzlösung (pH 7,6) mit 1 % Albumin-Trägerprotein mit Rinderserum verdünnt wurde.

## Ig-Klasse

AE1, IgG1

AE3, IgG1

## Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Chargenspezifische Gesamtproteinkonzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

## Antikörperkonzentration

Größer oder gleich 142,8 mg/l laut ELISA-Bestimmung. Chargenspezifische Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

## Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie bei Paraffinschnitten.

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

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

**Visualisierung:** Bitte Gebrauchsanweisung 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](http://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 Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des Verfallsdatums (auf dem Behälteretikett) darf das Produkt nicht mehr verwendet werden. Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden.

## Probenvorbereitung

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

## Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

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

Dieses Reagenz enthält Natriumazid. Ein Material Sicherheits-Datenblatt steht auf Anfrage oder unter folgender Adresse zur Verfügung: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

Vor und nach der Fixierung sind die Proben sowie alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt gekommen sind, als potentiell infektiös zu behandeln und daher mit entsprechender Vorsicht zu entsorgen.<sup>1</sup> Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden, und jeglicher Kontakt der Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen.

Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann.

Falls die spezifizierten Inkubationszeiten oder -temperaturen nicht eingehalten werden, kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen. Jegliche Abweichungen von den angegebenen Werten müssen vom Benutzer verifiziert werden.

## Qualitätskontrolle

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

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

## Positive Gewebekontrolle

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Für die positive Gewebekontrolle wird Hautgewebe empfohlen.

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

## Negative Gewebekontrolle

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

Für die negative Gewebekontrolle wird Skelettmuskelgewebe empfohlen.

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

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

## Negative Reagenzkontrolle

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

Patientengewebe Die mit NCL-L-AE1/AE3 gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Bei Bedarf sollte zur Identifizierung falsch-negativer Reaktionen eine Gruppe von Antikörpern verwendet werden.

## Erwartete Ergebnisse

### Normale Gewebe

Die Klone AE1/AE3 zeigen eine breite Reaktivität mit der sauren und der alkalischen Zytokeratinfamilie. Eine Verfärbung wurde im Zytoplasma von Epithelzellen in verschiedenen Geweben, einschließlich des Drüsenepithels der Prostata, der Brust, der Haut, der Schilddrüse, des Endometriums, der Nebenniere, der Hoden, der Bauchspeicheldrüse, der Speicheldrüse sowie des Platten- und Zylinderepithels der Haut, der Mandeln, des Gebärmutterhalses, der Speiseröhre, des Larynx und des Dünn- und Dickdarms festgestellt. Darüber hinaus wurden Färbungen in der Hypophyse, in Hassall-Körperchen und Retikulum im Thymus, in Alveolen und Pneumozyten in der Lunge, in Tubuli der Niere und in Gallengängen und Hepatozyten der Leber festgestellt. (Anzahl der insgesamt untersuchten normalen Gewebeprobe(n) = 109).

## Tumorgewebe

Die Klone AE1/AE3 führten zur Verfärbung bei 70/71 Brusttumoren (einschließlich 50/51 invasiven Duktalkarzinomen, 8/8 medullären Karzinomen, 8/8 invasiven lobulären Karzinomen und 4/4 gemischten duktal-lobulären Karzinomen), 5/5 Adenokarzinomen der Gallenblase, 3/3 Plattenepithelkarzinomen der Speiseröhre, 3/3 Adenokarzinomen des Magens, 3/3 Adenokarzinomen der Lunge, 3/3 Adenokarzinomen der Bauchspeicheldrüse, 2/3 Adenokarzinomen des Darms, 3/3 Übergangsepithelkarzinomen der Blase, 3/3 Plattenepithelkarzinomen des Gebärmutterhalses, 2/3 Astrozytomen, 2/2 papillären Karzinomen der Schilddrüse, 2/2 Adenokarzinomen der Prostata und 0/3 klarzellige Nierenkarzinomen. (Anzahl der insgesamt untersuchten abnormalen Fälle = 107.)

**NCL-L-AE1/AE3 wird für den Nachweis von Zytokeratinen in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.**

## **Allgemeine Beschränkungen**

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

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

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

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

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

## **Literatur - Allgemein**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

## **Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe**

Reagenzzusammensetzung, Gesamtproteinkonzentration, Antikörperkonzentration, Anwendungsempfehlungen, Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen, erwartete Ergebnisse.

## **Ausgabedatum**

31 Mai 2019

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal Líquidos de Ratón Multi-Cytokeratin Código De Producto: NCL-L-AE1/AE3

## Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-AE1/AE3 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de cytokeratin. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

## Principio Del Procedimiento

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

## Clon

Una mezcla de dos clones, AE1 y AE3, mezclados en una proporción 20:1.

## Inmunógeno

Preparación de citoqueratinas epidérmicas humanas.

## Especificidad

El clon AE1 reconoce las citoqueratinas humanas de 56,5, 50, 50', 48 y 40 kD de la subfamilia ácida.

El clon AE3 reconoce las citoqueratinas humanas de 65 a 67, 64, 59, 58, 56 y 52 kD de la subfamilia básica.

## Composición Del Reactivo

El NCL-L-AE1/AE3 es un fluido ascítico líquido de ratón purificado mediante cromatografía de proteína A diluida en solución salina amortiguada en fosfato (pH 7,6) con un 1 % de proteína portadora de albúmina sérica bovina que contiene azida sódica como conservante.

## Clase de Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

## Concentración Total De Proteína Total Protein

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

## Concentración De Anticuerpo

Mayor o igual a 142,8 mg/L según lo determinado por ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

## Recomendaciones De Uso

Cortes de parafina o inmunohistoquímica.

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

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

**Visualización:** Por favor, siga las instrucciones de uso de los Novolink™ Polymer Detection System. 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](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

## Almacenamiento Y Estabilidad

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

## Preparación De Las Muestras

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

## Advertencias Y Precauciones

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

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

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

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

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

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

### **Control De Calidad**

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

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

### **Control Tisular Positivo**

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

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

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

El tejido de control positivo recomendado es piel.

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

### **Control Tisular Negativo**

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

El tejido de control negativo recomendado es músculo esquelético.

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

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

### **Control De Reactivo Negativo**

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

### **Tejido Del Paciente**

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-AE1/AE3 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

### **Resultados esperados**

#### Tejidos normales

Los clones AE1/AE3 muestran una amplia reactividad con las familias básicas y ácidas de la citoqueratina. Se observó tinción en el citoplasma de células epiteliales de diversos tejidos, incluido el epitelio glandular de la próstata, la mama, la piel, la tiroides, el endometrio, la glándula adrenal, los testículos, el páncreas y la glándula salivar, y el epitelio columnar y escamoso de la piel, las amígdalas, el cuello uterino, el esófago, la laringe, el estómago y el intestino delgado y grueso. También se percibió tinción en la glándula pituitaria, los corpúsculos de Hassall y el retículo del timo, los alveolos y neumocitos pulmonares, los túbulos renales y en los conductos biliares y hepatocitos del hígado. (Número total de tejidos sanos evaluados = 109).

#### Tejidos tumorales

Los clones de AE1/AE3 tiñeron 70/71 tumores de mama (incluidos 50/51 carcinomas ductales invasivos, 8/8 carcinomas medulares, 8/8 carcinomas lobulares invasivos y 4/4 carcinomas mixtos ductales-lobulares), 5/5 adenocarcinomas de la vesícula biliar, 3/3 carcinomas de células escamosas del esófago, 3/3 adenocarcinomas estomacales, 3/3 adenocarcinomas pulmonares, 3/3 adenocarcinomas pancreáticos, 2/3 adenocarcinomas de colon, 3/3 carcinomas de células de transición vesicales, 3/3 carcinomas de células escamosas del cuello uterino, 2/3 astrocitomas, 2/2 carcinomas papilares tiroideos, 2/2 adenocarcinomas de la próstata y 0/3 carcinomas renales de célula clara. (Número total de casos anómalos evaluados = 107).



**El NCL-L-AE1/AE3 está recomendado para la detección de las citoqueratinas 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 portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

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

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

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

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

### **Bibliografía - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

### **Correcciones A La Publicación Anterior**

Composición del reactivo, concentración total de proteína, concentración de anticuerpo, recomendaciones de uso, advertencias y precauciones, resultados esperados.

### **Fecha De Publicación**

31 de mayo de 2019

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal Líquido de Ratinho Multi-Cytokeratin Código Do Produto: NCL-L-AE1/AE3

## Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-AE1/AE3 foi concebido para efectuar a identificação qualitativa da moléculas de cytokeratin por microscopia óptica, em secções parafinizadas. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

## Princípio Do Procedimento

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

## Clone

Um cocktail de dois clones, o AE1 e o AE3, misturados a uma razão de 20:1.

## Imunogénio

Preparação de citoqueratina epidérmica humana.

## Especificidade

O clone AE1 reconhece as citoqueratinas humanas de 56,5, 50, 50', 48 e 40 kD da subfamília ácida.

O clone AE3 reconhece a subfamília básica de 65 a 67, 64, 59, 58, 56 e 52 kD.

## Composição Do Reagente

NCL-L-AE1/AE3 é um fluido ascítico líquido de rato purificado por cromatografia de proteína A diluída em tampão fosfato-salino (pH 7,6) com 1% de proteína transportadora de albumina de soro bovina contendo azida de sódio como produto conservante.

## Classe De Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

## Concentração Total De Proteína Total Protein

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

## Concentração De Anticorpo

Igual ou superior a 142,8 mg/l, conforme determinado por ELISA. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

## Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de parafina.

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

**Diluição sugerida:** 1:200 durante 30 minutos a 25°C. Esta recomendação serve apenas de orientação, e os utilizadores devem determinar as suas diluições 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](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

## Armazenamento E Estabilidade

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

## Preparação Das Amostras

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

## Avisos E Precauções

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

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

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

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

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

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

### **Controlo Da Qualidade**

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

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

### **Controlo De Tecido Positivo**

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

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

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

O tecido de controlo positivo recomendado é a pele.

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

### **Controlo De Tecido Negativo**

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

O controlo de tecido negativo recomendado é o músculo esquelético.

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

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

### **Controlo De Reagente Negativo**

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

### **Tecido Do Doente**

Examinar as amostras do doente coloridas com NCL-L-AE1/AE3 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

### **Resultados Previstos**

#### Tecidos normais

Os clones AE1/AE3 apresentam uma reatividade de largo espectro com as famílias ácidas e básicas de citoqueratina. Observou-se coloração no citoplasma de células epiteliais de vários tecidos, incluindo epitélio glandular da próstata, mama, pele, tireoide, endométrio, glândulas adrenais, testículos, pâncreas e glândula salivar e epitélio escamoso e colunar da pele, amígdalas, colo do útero, esófago, laringe, estômago e intestino delgado e grosso. Também se observou coloração na glândula pituitária, corpúsculos de Hassall e retículo no timo, alvéolos e pneumócitos no pulmão, túbulos no rim e nos canais biliares e hepatócitos do fígado (número total de tecidos normais avaliados = 109).

#### Tecidos tumorais

Os clones AE1/AE3 coraram 70/71 tumores da mama (incluindo 50/51 carcinomas ductais invasivos, 8/8 carcinomas medulares, 8/8 carcinomas lobulares invasivos e 4/4 carcinomas mistos lobulares e ductais), 5/5 adenocarcinomas da vesícula biliar, 3/3 carcinomas de células escamosas do esófago, 3/3 adenocarcinomas do estômago, 3/3 adenocarcinomas do pulmão, 3/3 adenocarcinomas do pâncreas, 2/3 adenocarcinomas do cólon, 3/3 carcinomas de células de transição da bexiga, 3/3 carcinomas de células escamosas do colo do útero, 2/3 astrocitomas, 2/2 carcinomas papilares da tireoide, 2/2 adenocarcinomas da próstata e 0/3 carcinomas de células claras renais. (Número total de casos anormais avaliados = 107).

**NCL-L-AE1/AE3 é recomendado para a detecção de citoceratinas em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.**

### **Limitações Gerais**

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

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

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

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

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

### **Bibliografia - Geral**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

### **Emendas Da Edição Anterior**

Composição do Reagente, Concentração Total de Proteína, Concentração de Anticorpos, Recomendações Sobre a Utilização, Avisos e Precauções, Resultados Previstos.

### **Data De Emissão**

31 de maio de 2019

# Novocastra™ Flytande Monoklonal Musantikropp

## Multi-Cytokeratin

### Produktkod: NCL-L-AE1/AE3

#### **Avsedd Användning**

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-AE1/AE3 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av cytokeratin-molekyler i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

#### **Metodens Princip**

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

#### **Klon**

Blandning av två kloner, AE1 och AE3 blandad 20:1.

#### **Immunogen**

Human epidermal cytokeratinpreparation.

#### **Specifitet**

Klon AE1 igenkänner de humana cytokeratinerna 56.5, 50, 50', 48 och 40 kD från den syrliga subfamiljen.

Klon AE3 igenkänner 65 till 67, 64, 59, 58, 56 och 52 kD från den basiska subfamiljen.

#### **Reagensinnehåll**

NCL-L-AE1/AE3 är en flytande ascitesvätska från mus, som renats genom protein A-kromatografi, utspädd i fosfatbuffrad koksaltlösning (pH 7,6) med 1 % bovint serumalbumin proteinbäare med natriumazid som konserveringsmedel.

#### **Ig-klass**

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### **Total Proteinkoncentration** Total Protein

Se flaskans etikett för specifik, total proteinkoncentration.

#### **Antikropps-koncentration**

Större än eller lika med 142,8 mg/L enligt bestämning med ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration.

#### **Rekommendationer Vid Användning**

Immunohistokemi på paraffinsnitt.

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

**Föreslagen spädning:** 1:200 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](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

#### **Förvaring Och Stabilitet**

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

#### **Preparation Av Prov**

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffininbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### **Varningar Och Försiktighetsåtgärder**

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

Detta reagens innehåller natriumazid. Ett datablad för materialsäkerhet finns tillgängligt på begäran eller från [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)  
För kassering av potentiellt toxiska komponenter hänvisas till nationella eller lokala bestämmelser.

Före och efter fixering bör prover och alla material som har varit utsatta för dem hanteras som om det finns risk för att de kan överföra infektioner och kasseras med iakttagande av försiktighet.<sup>1</sup> Pipettera aldrig reagenser med munnen och se till att huden och slemhinnorna inte kommer i kontakt med reagens och prover. Om reagens eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.

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

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

## Kvalitetskontroll

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

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

## Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

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

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

Hud rekommenderas som positiv kontrollvävnad.

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

## Negativ Vävnadskontroll

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

Skelettmuskel rekommenderades som negativ kontrollvävnad.

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

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

## Negativ Reagenskontroll

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

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-AE1/AE3 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrunds-färgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en antikroppspanel för att identifiera falskt negativa reaktioner.

## Förväntade Resultat

### Normal vävnad

Klonerna AE1/AE3 uppvisar en bred reaktivitet med de sura och basiska cytotokeratinfamiljerna. Färgning observerades i cytoplasman hos epitelceller från en mängd olika vävnader, inklusive glandulärt epitel i prostata, bröst, hud, sköldkörtel, endometrium, binjuror, testiklar, pankreas och spottkörtel, och skvamöst och kolumnärt epitel av hud, tonsill, cervix, matstrupe, struphuvud, mage, tunntarm och tjocktarm. Färgning noterades även i hypofysen, Hassalls kroppar och reticulum i tymus, alveoler och pneumocyter i lungan, tubuli i njuren och i gallgångarna och hepatocyter i levern. (Totalt antal utvärderade normala vävnader = 109).

### Tumörvävnader

Kloner AE1/AE3 färgade 70/71 brösttumörer (inklusive 50/51 invasiva dukta carcinoma, 8/8 medullära carcinoma, 8/8 invasiva lobulära carcinoma och 4/4 dukta-lobulära blandade carcinoma), 5/5 adenocarcinom i gallblåsan, 3/3 skivepitelcancer i matstruppen, 3/3 adenocarcinom i magen, 3/3 adenocarcinom i lunga, 3/3 adenocarcinom i pankreas, 2/3 adenocarcinom i kolon, 3/3 övergångscellcancer i urinblåsan, 3/3 skivepitelcancer i cervix, 2/3 astrocytom, 2/2 papillära carcinoma i sköldkörteln, 2/2 adenocarcinom i prostata och 0/3 klarcellscarcinom i njurarna. (Totalt antal utvärderade onormala fall = 107).

**NCL-L-AE1/AE3 rekommenderas för detektion av cytotokeratiner i normala eller neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användning av icke-immunologiska, histokemiska färger.**

## Allmänna Begränsningar

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

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

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

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

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

## **Bibliografi - Allmän**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

## **Rättelser Av Tidigare Utgivning**

Reagenskomposition, total proteinkoncentration, antikropps-koncentration, rekommendationer om användning, varningar och försiktighetsåtgärder, förväntade resultat.

## **Utgivningsdatum**

31 maj 2019

# Novocastra™ Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Multi-Cytokeratin Κωδικός είδους: NCL-L-AE1/AE3

## Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

*Gia in vitro διαγνωστική χρήση.*

Το NCL-L-AE1/AE3 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρώπινης Μόρια cytokeratin σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

## Αρχή Της Διαδικασίας

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

## Κλώνος

Μείγμα δύο κλώνων, AE1 και AE3, αναμειγμένων σε αναλογία 20:1.

## Ανοσογόνο

Παρασκευάσμα ανθρώπινης επιδερμικής κυτοκερατίνης.

## Ειδικότητα

Ο κλώνος AE1 αναγνωρίζει τις ανθρώπινες κυτοκερατίνες 56,5, 50, 50', 48 και 40 kD της όξινης υποοικογένειας.

Ο κλώνος AE3 αναγνωρίζει τις κυτοκερατίνες 65 έως 67, 64, 59, 58, 56 και 52 kD της αλκαλικής υποοικογένειας.

## Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-AE1/AE3 είναι ένα ρευστό ασκτικό υγρό ποντικού κεκαθαμένο μέσω χρωματογραφίας της πρωτεΐνης A διαλυμένης μέσα σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7,6) με 1% πρωτεΐνη-φορέα αλβουμίνης βόειου ορού που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

## Τάξη Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

## Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

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

## Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 142,8 mg/l, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση ανοσοσφαιρίνης (Ig) ειδικά για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

## Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε τομές παραφίνης.

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

**Προτεινόμενη αραιώση:** 1:200 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](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

## Φύλαξη Και Σταθερότητα

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

## Παρασκευή Δείγματος

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

## Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

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

Αυτό το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου. Το Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού διατίθεται κατόπιν αιτήματος ή από τη διεύθυνση [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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



Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετδόσης λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις.<sup>1</sup> Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφυγείτε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.

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

Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοιες μεταβολές πρέπει να επικυρώνονται από το χρήστη.

## Ποιοτικός Έλεγχος

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

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

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

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

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

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

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι το δέρμα.

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επισήμανσης του αντιγόνου-στόχου από το πρωτοταγές αντίσωμα.

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι ο σκελετικός μυς.

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

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστήριου

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

## Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-AE1/AE3. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί Ιστοί

Οι κλώνοι AE1/AE3 παρουσιάζουν ευρεία αντιδραστικότητα με τις όζινες και βασικές οικογένειες της κυτταροκερατίνης. Παρατηρήθηκε χρώση στο κυτταρόπλασμα επιθηλιακών κυττάρων από διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του αδενικού επιθηλίου του προστάτη, του μαστού, του δέρματος, του θυρεοειδούς, του ενδομητρίου, των επινεφριδίων, των όρχων, του παγκρέατος και των σιελογόνων αδένων, καθώς και το πλακώδες και στο κυλινδρικό επιθήλιο του δέρματος, των αμυγδαλών, του τραχήλου της μήτρας, του οισοφάγου, του λάρυγγα, του στομάχου, καθώς και του λεπτού και του παχέος εντέρου. Παρατηρήθηκε επίσης χρώση στην υπόφυση, τα σμαρτάκια Hassall και τα δικτυώδη κύτταρα του θύμου, σε κυψελίδες και πνευμονοκύτταρα στον πνεύμονα, σε σωληνάριον στον νεφρό και στους χοληφόρους πόρους, καθώς και στα ήπατοκύτταρα του ήπατος. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών ιστών που αξιολογήθηκαν= 109).

### Καρκινικοί Ιστοί

Οι κλώνοι AE1/AE3 προκάλεσαν χρώση σε 70/71 των όγκων του μαστού (στους οποίους συμπεριλαμβάνονταν τα 50/51 των διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων, 8/8 των μελωδών καρκινωμάτων, 8/8 των διηθητικών λοβωιδών καρκινωμάτων και 4/4 των μικτών λοβωιδών πνευμονικών καρκινωμάτων), 5/5 των αδενοκαρκινωμάτων της χοληδόχου κύστης, 3/3 των πλακωδών κυττάρων καρκινωμάτων του οισοφάγου, 3/3 των αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου, (3/3) των αδενοκαρκινωμάτων του πνεύμονα, 3/3 των αδενοκαρκινωμάτων του παγκρέατος, 2/3 των αδενοκαρκινωμάτων στο κόλον, 3/3 των μεταστατικών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστεως, 3/3 των πλακωδών καρκινωμάτων του τραχήλου της μήτρας, 2/3 των αστροκυττάρων, 2/2 των θηλοειδών καρκινωμάτων του θυρεοειδούς, 2/2 των αδενοκαρκινωμάτων του προστάτη και 0/3 των διακυτταρικών νεφρικών καρκινωμάτων. (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 107).

**Το NCL-L-AE1/AE3 συνιστάται για την ανίχνευση κυττοκερατίνων σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.**

## Γενικοί Περιορισμοί

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

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

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

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

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

## Βιβλιογραφία - Γενική

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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Σύνθεση Αντιδραστηρίου, Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης, Συστάσεις Για Τη Χρήση, Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις, Αναμενόμενα Αποτελέσματα.

## Ημερομηνία Έκδοσης

31 Μαΐου 2019

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof

## Multi-Cytokeratin

### Produktkode: NCL-L-AE1/AE3

#### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-AE1/AE3 er beregnet til kvalitativ identifikation af cytokeratin-molekyler i paraffinsnit ved lysmikroskopi. Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

#### Procedureprincip

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

#### Klon

Cocktail af to kloner, AE1 og AE3, blandet i forholdet 20:1.

#### Immunogen

Præparation af humant, epidermalt cytokeratin.

#### Specifцитet

Klon AE1 genkender de humane cytokeratiner på 56,5, 50, 50', 48 og 40 kD fra den sure underfamilie.

Klon AE3 genkender de humane cytokeratiner på 65 til 67, 64, 59 58, 56 og 52 kD fra den basiske underfamilie.

#### Reagenssammensætning

NCL-L-AE1/AE3 er en ascitisk væske fra mus rensset ved protein A-kromatografi fortyndet i fosfatpufret saltopløsning (pH 7,6) med 1 % bovint serumalbuminbærerprotein indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### Totalproteinkoncentration

Total Protein

Den partispesifikke totale proteinkoncentration kan findes på hætteglassets etiket.

#### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 142,8 mg/l som bestemt med ELISA. Den batchspecifikke Ig-koncentration kan findes på hætteglassets etiket.

#### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Varmeinduceret epitopgenfinding (HIER):** Følg brugsanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslået fortynding:** 1:200 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 til Leica Biosystems, eller du kan besøge Leica Biosystems' hjemmeside på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

#### Opbevaring Og Holdbarhed

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

#### Prøveklargøring

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

#### Advarsler Og Forholdsregler

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

Reagenset indeholder natriumazid. Et sikkerhedsdatablad er tilgængeligt efter forespørgsel eller tilgængeligt fra [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

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

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

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

## Kvalitetskontrol

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

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

## Positiv Vævskontrol

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

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

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

Anbefalet positivt kontrolvæv er hud.

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

## Negativ Vævskontrol

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

Det anbefalede negative kontrolvæv er skeletmuskel.

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

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

## Negativ Reagenskontrol

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

## Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-AE1/AE3 sidst. Intensiteten af positiv farvning bør vurderes i sammenhæng med eventuelt uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist. Ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Om nødvendigt anvendes et panel af antistoffer til identifikation af falske negative reaktioner.

## Forventede Resultater

### Normalt væv

Klonerne AE1/AE3 viser bred reaktivitet med syre- og baseunderfamilierne af cytokeratiner. Farvning blev observeret i cytoplasmaet i epitelceller fra forskellige væv, herunder kirtlepitel i prostata, bryst, hud, skjoldbruskkirtel, endometrial, adrenal, testikel, pancreas og spytkirtel samt plade og søljeepitel i hud, tonsil, cervix, spiserør, strubehoved, mave og tyndtarm og tyktarm. Farvning blev også bemærket i hypofyse, Hassalls blodlegemer og retikulum i tymus, alveoler og pneumocytter i lungerne og galdekanaler og hepatocytter i leveren. (Samlet antal normale væv, der blev evalueret = 109).

### Tumurvæv

Klonerne AE1/AE3 farvede 70/71 brysttumorer (inklusive 50/51 invasive ductale karsinomer, 8/8 medullære carcinomer, 8/8 invasive lobulære carcinomer og 4/4 ductal-lobulære blandede carcinomer), 5/5 adenocarcinomer i galdeblæren, 3/3 squamouscellcarcinomer i spiserøret, 3/3 adenocarcinomer i maven, 3/3 adenocarcinomer i lungerne, 3/3 adenocarcinomer i bugspytkirtlen, 2/3 adenocarcinomer i tyktarmen, 3/3 transitional cellekarcinomer i blæren, 3/3 pladecellekarcinomer i livmoderhalsen, 2/3 astrocytomer, 2/2 papillære carcinomer i skjoldbruskkirtlen, 2/2 adenocarcinomer i prostata og 0/3 renalcelle carcinomer. (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 107).

**NCL-L-AE1/AE3 anbefales til påvisning af cytokeratiner 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 bestående af mange trin, der omfatter specialiseret uddannelse i valg af passende reagenser, vævsselektion, -fiksering og -behandling samt fremstilling af IHC-objektglas og fortolkning af farvningsresultaterne.

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

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

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

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

### **Bibliografi - Generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588..

### **Rettelser Til Tidligere Udgave**

Reagenssammensætning, total proteinkoncentration, antistofkoncentration, anbefalinger vedrørende anvendelse, advarsler og forholdsregler, forventede resultater.

### **Udgivelsesdato**

31 Mei 2019

# Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muisantilichaam Multi-Cytokeratin

**Productcode: NCL-L-AE1-AE3**

## Beoogd gebruik

*Voor gebruik bij in-vitrodiagnostiek*

NCL-L-AE1/AE3 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie, van cytokeratinemoleculen in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van elke kleuring of het ontbreken hiervan moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste controles en moet binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests worden geëvalueerd 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 (primaair 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

Cocktail van twee klonen, AE1 en AE3, gemengd in een verhouding van 20:1.

## Immunogeen

Humaan epidermaal cytokeratinepreparaat.

## Specificiteit

Kloon AE1 herkent de 56,5, 50, 50', 48 en 40 kD humane cytokeratinen van de zure subfamilie.

Kloon AE3 herkent 65 tot 67, 64, 59, 58, 56 en 52 kD van de basische subfamilie.

## Reagenssamenstelling

NCL-L-AE1/AE3 is een vloeibare muizen ascitische vloeistof gezuiverd door eiwit A-chromatografie verdund in fosfaatgebufferde zoutoplossing (pH 7,6) met 1% runderserumalbumine-dragereiwit met natriumazide als conserveringsmiddel.

## Ig-klasse

AE1, IgG1

AE3, IgG1

## Totale eiwitconcentratie Total Protein

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

## Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 142,8 mg/l zoals bepaald door ELISA. Zie het etiket van de flacon voor specifieke Ig-concentratie van de partij.

## Aanbevelingen voor het gebruik

Immunohistochemie op paraffinecoupes.

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

**Vorgestelde verdunning:** 1:200 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](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

## Opslag en stabiliteit

Bewaar bij 2–8°C. Niet invriezen. Direct na gebruik weer bij 2–8°C opslaan. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het etiket van de flacon staat. Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd.

## Monsterpreparatie

Het aanbevolen fixatief 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](http://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 afgevoerd.<sup>1</sup> 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 in aanvulling op de volgende procedures. Controles zijn verse autopsie-/biopsie-/chirurgische monsters 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 kleuringrun 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 kleuring.<sup>2</sup> Aanbevolen positief controleweefsel is huid. 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 negatief controleweefsel is skeletspier. Aan de andere kant levert de verscheidenheid aan diverse celltypen 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 bovenmatig in formaline gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor het interpreteren van kleuringresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specifiek.<sup>3</sup> 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-AE1/AE3 gekleurd zijn 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

Klonen AE1/AE3 vertonen een brede reactiviteit met zure en basische cytokeratinefamilies. Kleuring werd waargenomen in het cytoplasma van epitheelcellen van een groot aantal weefsels, waaronder het glandulaire epitheel van de prostaat, borst, huid, schildklier, endometrium, bijnier, testis, pancreas en speekselklier, en plaveisel- en cilindrisch epitheel van de huid, tonsil, cervix, slokdarm, larynx, maag en dunne en dikke darm. Kleuring werd ook opgemerkt in de hypofyse, de Hassall-bloedlichaampjes en reticulum in de thymus, alveoli en pneumocyten in de long, nierbuisjes, en in de galwegen en hepatocyten van de lever. (Totaal aantal beoordeelde normale weefsels = 109).

### Afwijkende weefsels

Klonen AE1/AE3 kleurden 70/71 borsttumoren (waaronder 50/51 invasieve ductale carcinomen, 8/8 medullaire carcinomen, 8/8 invasieve lobulaire carcinomen en 4/4 ductale- en lobulaire carcinomen), 5/5 adenocarcinomen van de galblaas, 3/3 plaveiselcelcarcinomen van de slokdarm, 3/3 adenocarcinomen van de maag, 3/3 adenocarcinomen van de long, 3/3 adenocarcinomen van de pancreas, 2/3 adenocarcinomen van de colon, 3/3 overgangscelcarcinomen van de blaas, 3/3 plaveiselcelcarcinomen van de cervix, 2/3 astrocytomen, 2/2 papillaire carcinomen van schildklier, 2/2 adenocarcinomen van de prostaat en 0/3 'clear cell'-niercarcinomen. (Totaal aantal afwijkende gevallen dat werd geëvalueerd = 107.)

**NCL-L-AE1/AE3 wordt aanbevolen voor het detecteren van cytokartinen 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 inbeddingsmethodes, of aan intrinsieke onregelmatigheden in het weefsel.<sup>4</sup>

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

De klinische interpretatie van elke kleuring of het ontbreken hiervan moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste controles en moet binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests worden geëvalueerd 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 neoplasmata. 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. 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## Aanpassingen ten opzichte van de vorige uitgave

Reagentiasamenstelling, Totale Proteïneconcentratie, Antilichaamconcentratie, Aanbevelingen over het Gebruik, Waarschuwingen en Voorzorgsmaatregelen, Verwachte Resultaten.

## Datum uitgave

10 mei 2010



# Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff Multi-Cytokeratin

## Produktkode: NCL-L-AE1/AE3

### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-AE1/AE3 skal brukes til kvalitativ identifikasjon av humane cytotkeratinmolekyler i parafinsnitt ved lysmikroskopering. 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 kliniske historie 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 lysmikroskop og bidrar til differensialdiagnosen for patofysiologiske prosesser, som kan være tilknyttet et spesielt antigen eller ikke.

### Klon

Cocktail av to kloner, AE1 og AE3, blandet til et forhold på 20:1.

### Immunogen

Humant epidermalt cytotkeratinpreparat.

### Spesifisitet

Klon AE1 gjenkjenner 56,5, 50, 50', 48 og 40 kD humane cytotkeratiner av syreunderfamilien.

Klon AE3 gjenkjenner 65 til 67, 64, 59, 58, 56 og 52 kD av baseunderfamilien.

### Reagenssammensetning

NCL-L-AE1/AE3 er en flytende ascitisk væske rensed ved protein A-kromatografi, fortynt i fosfatbufret saltvann (pH 7,6) med 1 % av bærerproteinene bovint serumalbumin og med natriumazid som konserveringsmiddel.

### Ig-klasse

AE1, IgG1

AE3, IgG1

### Totalproteinkonsentrasjon Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk totalproteinkonsentrasjon.

### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 142,8 mg/l som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for batchspesifikk Ig-konsentrasjon.

### Anbefalinger for bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

**Varmeindusert epitopgjenfinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Følg bruksanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslått fortykning:** 1:200 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun veiledende, og brukerne bør fastslå egne optimale fortyninger for sitt arbeid.

**Visualisering:** Følg bruksanvisningen for Novolink™ Polymer Detection Systems. Hvis du ønsker ytterligere produktinformasjon eller -støtte, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems' nettsted på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

### Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar ved 2–8 °C. Må 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 % nøytralt bufret 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](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som utsettes for dem, skal håndteres som smittefarlige og avhendes etter egne forholdsregler.<sup>1</sup> Pipetter aldri reagenser via munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skylle med rikelige mengder vann. Oppsøk lege.

Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i ikke-spesifikk farging.

Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de som er spesifisert, kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring 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 formalinfixert, behandlet og parafinvoxsinnstøpt så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e).

## Positiv vevkontroll

Brukes for å indikere riktig klargjorte vev og riktige fargingsteknikker.

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

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

Anbefalt positivt kontrollvev er hud.

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

## Negativ vevkontroll

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

Anbefalt negativt kontrollvev er skjelettmuskulatur.

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

Ikke-spesifikk farging, hvis dette forekommer, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev vil også kunne observeres i vevsniitt som er fixert i for mye formalin. Bruk intakte celler til tolkning av fargingsresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikk.<sup>3</sup> Falske positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaktionsprodukter. 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 substratromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratromogen. 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-AE1/AE3 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

Klon AE1/AE3 viser bred reaktivitet med syre- og baseunderfamilien av cytokeratiner. Farging ble observert i cytoplasmaet til epitelceller fra en rekke vev, inkludert kjerteepitel i prostata, bryst, hud, skjoldbruskkjertel, endometrium, binyre, testikkel, bukspyttkjertel og spyttkjertel samt plate- og søyleepitel i hud, mandel, livmorhals, spiserør, strupehode, magesekk og tyntarm og tykktarm. Farging ble også observert i hypofyse, Hassalls korpuskler og retikulum i tymus, alveoli og pneumocytter i lungene, nyretubuli samt i galleganger og hepatocytter i leveren. (Totalt antall evaluerte normale vev = 109).

### Unormale vev

Klon AE1/AE3 farget 70/71 brysttumorer (inkludert 50/51 invasive ductale karsinomer, 8/8 medullære karsinomer, 8/8 invasive lobulære karsinomer og 4/4 blandede ductal-lobulære karsinomer), 5/5 adenokarsinomer av galleblæren, 3/3 skvamøse cellekarsinomer i osofag, 3/3 adenokarsinomer i magen, 3/3 adenokarsinomer i lungene, 3/3 adenokarsinomer i pankreas, 2/3 adenokarsinomer i kolon, 3/3 transisjonelle cellekarsinomer i blæren, 3/3 skvamøse cellekarsinomer i cervix, 2/3 astrocytomer, 2/2 papillære karsinomer i tyreoida, 2/2 adenokarsinomer i prostata og 0/3 renale klarcellekarsinomer. (Totalt antall unormale tilfeller evaluert = 107).

**NCL-L-AE1/AE3 anbefales for deteksjon av cytokeratiner i normale og neoplastiske vev, og som et 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, farging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpningsmetoder eller uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup> 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 kliniske historie og andre diagnostiske tester.

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

## **Bibliografi – generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## **Endringer på tidligere utgave**

Reagenssammensetning, Totalproteinkonsentrasjon, Antistoffkonsentrasjon, Anbefalinger for bruk, Advarsler og forholdsregler, Forventede resultater.

## **Utstedelsesdato**

10. mai 2010

# Novocastra™ Likit Monoklonal Fare Antikoru Multi-Cytokeratin

## Ürün Kodu: NCL-L-AE1/AE3

### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanım içindir.

NCL-L-AE1/AE3, parafin bölümlerindeki sitokeratin moleküllerinin ışık mikroskopisi ile kalitatif tanımlanması için tasarlanmıştır. Herhangi bir boyanın veya yokluğunun klinik yorumlaması hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler bağlamında nitelikli bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

### İşlem Prensipleri

İmmünohistokimyasal (İHK) boyama teknikleri, antijene ardışık olarak belirli bir antikoron uygulanması (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikoron 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. Numune daha sonra karşıt boyanabilir ve lamelle örtülebilir. Sonuçlar bir ışık mikroskobu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabileceği veya olmayabileceği patofizyolojik süreçlerin ayrıncı tanısına yardımcı olur.

### Clone

20:1 oranında karıştırılmış AE1 ve AE3 klonlarının kokteyli.

### İmmünojen

İnsan epidermal sitokeratin preparatı.

### Özgüllük

Klon AE1 asidik alt seriden 56,5, 50, 50', 48 ve 40 kD insan sitokeratinlerini tanıır.

Klon AE3 bazik alt seriden 65 - 67, 64, 59, 58, 56 ve 52 kD'yi tanıır.

### Reaktif Bileşimi

NCL-L-AE1/AE3, koruyucu olarak sodyum azit içeren, %1 bovin serum albumini taşıyıcı proteiniyle fosfat tamponlu salinde (pH 7,6) seyreltilen, protein A kromatografisiyle saflaştırılmış bir likit fare asitik sıvısıdır.

### Ig Sınıfı

AE1, IgG1.

AE3, IgG1.

### Toplam Protein Konsantrasyonu Total Protein

Lota özgül toplam protein konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 142,8 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Seriyeye özgül Ig konsantrasyonu için flakon etiketine bakın.

### 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 dilüsyon:** 25°C'de 30 dakika süreyle 1:200. Bu, kılavuz olarak verilmiştir ve kullanıcılar kendi optimal çalışma seyreltilerini belirlemelidir.

**Görselleştirme:** Lütfen Novolink™ Polymer Detection Systems'in kullanım talimatlarını izleyin. Ürünle ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçebilirsiniz ya da bunun yerine Leica Biosystems Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

### Saklama ve Stabilite

2-8°C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2-8°C'ye geri alın. Flakon etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenler dışında saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

### Numune Hazırlama

Parafine gömülü doku kesitleri için önerilen fiksasyon %10 nötr tamponlanmış formalindir.

### Uyarılar ve Önlemler

Bu reaktif hücre kültürü süpermatanından 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](http://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 yayabileceği gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak atılmalıdır. 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 minimuma indirin yoksa nonspesifik boyanmada bir artış olabilir.

Belirtilenler dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kalite Kontrol

Kullanıcının laboratuvarında doku işleme ve teknik işlemlerdeki farklar sonuçlarda önemli değişkenliğe neden olabilir ve aşağıdaki işlemlere ek olarak düzenli şekilde tesis içi kontrollerin kullanılmasını gerektirir. Kontroller, hasta numunesi/numuneleriyle aynı şekilde mümkün olduğunca kısa süre içinde formalin fiksasyonlu, işlenmiş ve parafine gömümlü taze otopsi/biyopsi/cerrahi materyal 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 minor reaktif bozunma düzeylerini saptamak için güçlü pozitif boyama yapılmış dokudan daha uygundur.<sup>2</sup>

Önerilen pozitif kontrol dokusu deridir.

Eğer pozitif doku kontrolü pozitif boyanma göstermezse, test numunelerinin 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 kasıdır.

Alternatif olarak çoğu doku kesitinde bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği sıklıkla negatif kontrol bölgeleri sunar ama bu durum kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Eğer varsa nonspesifik boyanmanın görünümü genellikle difüzdür. Aşırı formalin fiksasyonlu dokulardan kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da görülebilir. Boyanma sonuçlarının yorumlanması için sağlam hücreler kullanın. Nekrotik ve dejenere hücreler genellikle spesifik olmayan şekilde boyanır.<sup>3</sup> Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünohistokimyasal testle olduğu gibi negatif bir sonuçla yanlış 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 bağlanmasını spesifik immünoreaktiveden 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 numunelerinin 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-AE1/AE3 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan herhangi bir arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Her immünohistokimyasal testle olduğu gibi negatif bir sonuç antijenin saptanmadığı anlamına gelir ve antijenin çalışılan hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez. Gerekirse yalnızca negatif reaksiyonları tanımlamak için bir antikor paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

AE1/AE3 klonları, asidik ve bazik sitokeratin aileleriyle geniş bir reaktivite gösterir. Prostat, meme, deri, tiroid, endometriyum, adrenal bez, testis, pankreas ve tükrüklü bezli glandüler epitelyumu ve deri, bademcik, serviks, yutak, gırtlak, mide ve ince ve kalın bağırsak skuamöz ve kolon epitelyumu dahil olmak üzere çeşitli dokulara ait epitel hücrelerin sitoplazmasında boyama gözlenmiştir. Ayrıca hipofiz bezinde, timustaki Hassall cisimciklerinde ve retikülumda, akciğerdeki alveollerde ve pnömositlerde, böbrek tübüllerinde, safra kanallarında ve karaciğer hepatositlerinde de boyama gözlenmiştir. (Değerlendirilen toplam normal doku sayısı = 109).

### Anormal Dokular

AE1/AE3 klonları, 70/71 meme tümörlerinde (50/51 invaziv duktal karsinomları, 8/8 medüller karsinomları, 8/8 invaziv lobüler karsinomları ve 4/4 duktal-lobüler karışık karsinomları dahil), 5/5 safra kesesi adenokarsinomlarında, 3/3 yutak skuamöz hücreli karsinomlarında, 3/3 mide adenokarsinomlarında, 3/3 akciğer adenokarsinomlarında, 3/3 pankreas adenokarsinomlarında, 2/3 kolon adenokarsinomlarında, 3/3 mesane transizyonel hücre karsinomlarında, 3/3 servikal skuamöz hücreli karsinomlarında, 2/3 astrositomlarında, 2/2 tiroid papiller karsinomlarında, 2/2 prostat adenokarsinomlarında ve 0/3 renal berrak hücreli karsinomlarında boyanmıştır. (Değerlendirilen toplam anormal olgu sayısı = 107).

**NCL-L-AE1/AE3, immünohistokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye yardımcı olarak normal ve neoplastik dokularda sitokeratinlerin saptanması için önerilir.**

## Genel Sınırlamalar

İmmünohistokimya; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi, IHC slaytının 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 fiksasyonu, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyonu artefaktlara, antikor tutulmasına veya yalnızca negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki değişikliklerden ya da dokunun yapısından kaynaklanan düzensizliklerden kaynaklanabilir.<sup>4</sup>

Aşırı ya da tam olmayan karşı boyama, sonuçların düzgün yorumlanmasını olumsuz etkileyebilir.

Herhangi bir boyanmanın veya yokluğunun klinik yorumlaması hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler bağlamında nitelikli bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd'nin antikorları, belirtilen şekilde, özel fiksasyon gereklilikleriyle parafine gömümlü veya dondurulmuş kesitler üzerinde kullanılır. Özellikle neoplastiklerde beklenmeyen antijen ekspresyonu oluşabilir. Özellikle bir boyanmış 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

## Önceki Sayıya Göre Değişiklikler

Reaktif Bileşimi, Toplam Protein Konsantrasyonu, Antikor Konsantrasyonu, Kullanım Hakkında Öneriler, Uyarılar ve Önlemler, Beklenen Sonuçlar.

## Yayın Tarihi

31 Mayıs 2019

# Течно мише моноклонално антитяло Novocastra™ Multi-Cytokeratin

## Код на продукта: NCL-L-AE1/AE3

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-AE1/AE3 е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на молекули цитокератин 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 имуохистохимично (ИHC) 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

Коктейл от два клонинга, AE1 и AE3, смесени в съотношение 20:1.

### Имуноген

Проба от човешки епидермален цитокератин.

### Специфичност

Клонинг AE1 разпознава 56.5, 50, 50', 48 и 40 kD човешки цитокератини от киселинното подсемейство.

Клонинг AE3 разпознава 65 до 67, 64, 59, 58, 56 и 52 kD от основното подсемейство.

### Състав на реагента

NCL-L-AE1/AE3 е миша асцитна течност, пречистена чрез протеин А хроматография и разреждана във фосфатно буферизиран физиологичен разтвор (pH 7,6) с протеинов носител 1% говежди серумен албумин, съдържащ натриев азид като консервант.

### Имуноглобулинов клас

AE1, IgG1

AE3, IgG1

### Обща концентрация на протеин Total Protein

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

### Концентрация на антитела

По-висока или равна на 142,8 mg/L, както е определено от ELISA. Вижте етикета на флакона относно специфичната за партидата концентрация на имуноглобулин.

### Препоръки за употреба

Имуохистохимия върху парафинови срези.

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

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

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

Съхранявайте при температура 2 – 8°C. Не замразявайте. 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 буферизиран 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. Информационен лист за безопасност на материалите е наличен при запитване или на адрес [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

Всички спесимени преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират като възможни преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.<sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.

Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

## Качествен контрол

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

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

## Позитивна тъканна контрола

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

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

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

Препоръчителната тъкан за позитивна контрола е кожа.

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

## Негативна тъканна контрола

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

Препоръчителната тъкан за негативна контрола е 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 неспецифично.<sup>3</sup>

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

## Негативна контрола на реагента

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

## Тъкан от пациента

Спесимените на пациенти, оцветени с NCL-L-AE1/АЕ3, трябва да се изследват последни. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираният клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антигела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

Клонингите АЕ1/АЕ3 демонстрират широка реактивност с киселинните и неутрално-основните семейства на цитокератина. Оцветяването се наблюдава в цитоплазмата на епителни клетки от редица тъкани, включително glandуларен епител от простата, гърда, кожа, щитовидна жлеза, ендометриум, надбъбречна жлеза, тестис, панкреас и слюнчеста жлеза, както и сквамозен и колумнарен епител от кожа, сливица, маточна шийка, хранопровод, ларинкс, стомах и тънко и дебело черво. Оцветяването се наблюдава и в хипофизната жлеза, Хасалевите телца и ретикулума на тимуса, както и в алвеолите и пневмоцитите в белите дробове, тубулите в бъбреците, жлъчните канали и хепатоцитите в черния дроб. (Общ брой на оценените нормални тъкани = 109).



#### Абнормни тъкани

Клонинги AE1/AE3 оцветяват 70/71 тумора на гърдата (включително 50/51 инвазивни дуктални карцинома, 8/8 медуларни карцинома, 8/8 инвазивни лобуларни карцинома и 4/4 смесени дуктално-лобуларни карцинома), 5/5 аденокарцинома на жлъчния мехур, 3/3 плоскоклетъчни карцинома на хранопровода, 3/3 аденокарцинома на стомаха, 3/3 аденокарцинома на белия дроб, 3/3 аденокарцинома на панкреаса, 2/3 аденокарцинома на ободното черво, 3/3 преходноклетъчни карцинома на пикочния мехур, 3/3 плоскоклетъчни карцинома на цервикса, 2/3 астроцитомата, 2/2 папиларни карцинома на щитовидната жлеза, 2/2 аденокарцинома на простатата и 0/3 светлоклетъчни карцинома на бъбреците. (Общ брой на оценените абнормни случаи = 107).

**Продуктът NCL-L-AE1/AE3 се препоръчва за откриване на цитокератини 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 ИНС предметно стъкло 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, сръзване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини поява на артефакти, блокиране на антителата или фалшиво отрицателни резултати. Несъответстващите резултати може да се дължат на вариации в методите на фиксация и вграждане или на присъща нерегулярност в тъканта.<sup>4</sup> Прекомерното или непълно контраоцветяване може да попречи на правилната интерпретация на резултатите.

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

Антителата от Leica Biosystems Newcastle Ltd са предназначени за употреба, както е указано, върху замразени или вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценка 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

#### **Изменения на предишно издание**

Състав на реагента, Концентрация на общ протеин, Концентрация на антитялото, Препоръки за употреба, Предупреждения и предпазни мерки, Очаквани резултати.

#### **Дата на издаване**

31 май 2019 г.

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest

## Multi-Cytokeratin

### Termékkód: NCL-L-AE1/AE3

#### Alkalmazási terület

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-AE1/AE3 a citokeratin molekulák fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

#### Az eljárás elve

Az immunhisztokémiai (immunohistochemical, IHC) megfestési technikák az antigén elleni specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest elleni másodlagos antitest és egy enzim kromogén 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

Két klón, az AE1 és AE3 20:1 arányú keverékéből álló koktél.

#### Immunogén

Humán epidermális citokeratin készítmény.

#### Specifititás

Az AE1 klón a savas alcsaládba tartozó 56,5, 50, 50', 48 és 40 kD-os humán citokeratinokat ismeri fel.

Az AE3 klón a lúgos alcsalád 65–67, 64, 59, 58, 56 és 52 kD-os tagjait ismeri fel.

#### A reagens összetétele

Az NCL-L-AE1/AE3 egy protein-A kromatográfiás módszerrel tisztított, foszfátpufferes sóoldatban (pH 7,6) hígított, 1% szarvasmarhaszérum-albumin hordozófehérjét és tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony egér ascites folyadék.

#### Ig-osztály

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

#### Antitest-koncentráció

Legalább 142,8 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:** 1:200, 30 percen át, 25 °C-on. Az adatok csak útmutatásul szolgálnak, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkaadataikat.

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

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

#### Tárolás és stabilitás

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

#### A minták előkészítése

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

#### Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejtkultúra felülűszökből készült. Mivel biológiai termék, kezeléskor érzszerű körületekintéssel kell eljárni.

Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági adatlapot igény esetén rendelkezésre bocsátjuk, illetve elérhető a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

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

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

Minimálisan kell csökkenteni a reagensok 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 körülménygyűttes esetében és minden megfestési sorozatban kell alkalmazni egy pozitív szövetkontrollt.

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

A javasolt pozitív kontrollszövet a bőr.

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 vázizom.

Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelen lévő különböző sejtípusok 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 meg.<sup>3</sup> A fehérvérj vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Okozhatják ezt olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (eritrociták), endogén peroxidáz (citokörök C), illetve endogén biotin (pl. máj, mell, agy, vese), az alkalmazott immunmegfestés típusától függően. Az endogén enzim aktivitásának vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimkomplexekkel (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 értelmezéséhez minden betegminta esetén egy metszetet alkalmazzon az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt.

## Betegszövet

Az NCL-L-AE1/AE3 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 AE1/AE3 klónok széles körben reagálnak a citokeratin savas és lúgos családjával. Festődés volt megfigyelhető különböző szövetek hámszejteinek citoplazmájában, így a prosztata, emlő, bőr, pajzsmirigy, endometrium, mellékvese, here, hasnyálmirigy és nyálmirigy miríghámjában, illetve a bőr, tonsilla, méhnyak, nyelőlöcső, gége, gyomor, valamint a vékony- és vastagbél laphámsejtjeiben és hengerhámsejtjeiben. Festődés volt észlelhető továbbá a következőkben: hipofízis, a csecsemőmirigy Hassall-testei és retikuluma, a tüdő alveolusai és pneumocitái, a vese tubulusai, valamint a máj epevezetékei és hepatocitái.

(Vizsgált normál szövetek összesített száma = 109).

### Kóros szövetek

Az AE1/AE3 klónok megfestettek 70/71 emlődaganatot (beleértve 50/51 invazív duktális karcinómát, 8/8 medulláris karcinómát, 8/8 invazív lobuláris karcinómát és 4/4 kevert duktális-lobuláris karcinómát), 5/5 epehólyag-adenokarcinómát, 3/3 laphámsejtes nyelőlöcső-karcinómát, 3/3 gyomor-adenokarcinómát, 3/3 tüdő-adenokarcinómát, 3/3 hasnyálmirigy-adenokarcinómát, 2/3 vastagbél-adenokarcinómát, 3/3 átmeneti sejtes húgyhólyag-karcinómát, 3/3 laphámsejtes méhnyak-karcinómát, 2/3 asztricitómát, 2/2 papilláris pajzsmirigy-karcinómát, 2/2 prosztata-adenokarcinómát és 0/3 világossejtes vesekarcinómát. (Vizsgált kóros esetek összesített száma = 107).

**Az NCL-L-AE1/AE3 a citokeratinok kimutatására ajánlott normál és daganatos szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszövettani 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. Ellentmondó eredményekhez vezethetnek a fixálási vagy beágyazási módszerek eltérései, illetve a szövet eredendő rendellenességei.<sup>4</sup>

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 elemzés 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## Módosítások az előző változathoz képest

A reagens összetétele, Összfehérje-koncentráció, Antitest-koncentráció, Felhasználási javaslatok, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Várható eredmények.

## Kiadás dátuma

2019. május 31.

# Novocastra™ Anticorp monoclonal lichid de șoarece Multi-Cytokeratin

## Cod produs: NCL-L-AE1/AE3

### Utilizare prevăzută

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-AE1/AE3 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a moleculelor de citokeratină în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

### Principiul de procedură

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

### Clonă

Cocktail de două clone, AE1 și AE3, amestecate într-un raport de 20:1.

### Imunogen

Preparat de citokeratină epidermică umană.

### Specificitate

Clona AE1 recunoaște citokeratinele umane 56.5, 50, 50', 48 și 40 kD din subfamilia acidă.

Clona AE3 recunoaște 65 - 67, 64, 59, 58, 56 și 52 kD din subfamilia bazică.

### Compoziția reactivului

NCL-L-AE1/AE3 este un fluid ascitic lichid de șoarece purificat prin cromatografie cu proteină A diluată în soluție salină tamponată cu fosfat (pH 7,6) cu proteină purtătoare albumină de ser bovin 1% conținând azidă de sodiu drept conservant.

### Clasa Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

### Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

### Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 142.8 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 (HIER):** Urmați instrucțiunile de utilizare din Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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

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

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

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

### Avertismente și precauții

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

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

Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea a deșeurilor a oricăror componente cu potențial toxic.

Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manevrate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate.<sup>1</sup> Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul reactivilor și speciemenelor cu pielea și mucoasele. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

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

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

## Controlul calității

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

## Țesutul de control pozitiv

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

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

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

Țesutul de control pozitiv recomandat este pielea.

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

## Țesutul de control negativ

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

Țesutul de control negativ recomandat este mușchiul 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 nespecific.<sup>3</sup> Se pot observa rezultate fals pozitive ca urmare a legării non-immunologice a proteinelor sau produșilor de reacție ai substratului. Acestea pot fi cauzate, de asemenea, de enzimele endogene precum pseudoperoxidaza (eritrocite), peroxidaza endogenă (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, creier, 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 pacienți numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

## Reactivul de control negativ

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

## Țesutul pacientului

Examinați speciemenele pacientului colorate cu NCL-L-AE1/AE3 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei

colorații de fond nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un panel pentru anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Clonele AE1/AE3 prezintă o reactivitate largă cu familiile acide și bazice de citokeratină. S-a observat colorare în citoplasma celulelor epiteliale de la o varietate de țesuturi, care includ epiteliul glandular al prostatei, sân, piele, tiroidă, endometru, glandele suprarenale, testicule, pancreas și glandele salivare și epitelul scuamos și columnar al pielii, amigdale, col uterin, esofag, laringe, stomac și intestinul subțire și gros. S-a observat de asemenea colorare în glanda pituitară, corpusculii lui Hassall și reticul în timus, alveole și pneumocite la nivelul plămânilor, tubuli la nivelul rinichilor și în canalele biliare și hepatocite la nivelul ficatului.

(Numărul total de țesuturi normale evaluate = 109).

### Țesuturi anormale

Clonele AE1/AE3 au colorat 70/71 tumori mamare (incluzând 50/51 carcinoame ductale invazive, 8/8 carcinoame medulare, 8/8 carcinoame lobulare invazive și 4/4 carcinoame mixte ductale-lobulare), 5/5 adenocarcinoame ale vezicii biliare, 3/3 carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului, 3/3 adenocarcinoame ale stomacului, 3/3 adenocarcinoame ale plămânului, 3/3 adenocarcinoame ale pancreasului, 2/3 adenocarcinoame ale colonului, 3/3 carcinoame cu celule tranzitionale ale vezicii urinare, 3/3 carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin, 2/3 astrocitoame, 2/2 carcinoame papilare ale tiroidei, 2/2 adenocarcinoame ale prostatei și 0/3 carcinoame cu celule renale clare. (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 107).

**NCL-L-AE1/AE3 este recomandat pentru detectarea citokeratinelor în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant la histopatologia convențională, utilizând colorații histochimice neimunologice.**

## Limitări generale

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

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

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

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

Anticorpii de la Leica Biosystems Newcastle Ltd sunt destinați utilizării, conform indicațiilor, fie pe secțiuni congelate, fie pe secțiuni încorporate în parafină cu cerințe de fixare specifice. Poate apărea exprimarea neașteptată a antigenului, în special în 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, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## Amendamente la ediția anterioară

Compoziția reactivilor, Concentrația totală a proteinelor, Concentrația anticorpului, Recomandări de utilizare, Avertizări și măsuri de precauție, Rezultate preconizate.

## Data publicării

31 mai 2019

# Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ Multi-Cytokeratin

## Код продукта: NCL-L-AE1/AE3

### Назначение

*Для диагностики in vitro*

Препарат NCL-L-AE1/AE3 предназначен для качественного определения молекул цитокератина 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

Смесь, состоящая из двух клонов — AE1 и AE3, с соотношением 20:1.

### Иммуноген

Подготовка цитокератина эпидермальных клеток человека (Human epidermal cytokeratin preparation).

### Специфичность

Клон AE1 распознает цитокератины человека, имеющие молекулярную массу 56,5, 50, 50, 48 и 40 кД, и относящиеся к кислому (с точки зрения изоэлектрической точки) белковому подсемейству.

Клон AE3 распознает молекулярную массу от 65 до 67 кД, а также 64, 59, 58, 56 и 52 кД, относящиеся к основному (с точки зрения изоэлектрической точки) белковому подсемейству.

### Состав реактива

NCL-L-AE1/AE3 — асцитическая жидкость мышей, очищенная хроматографией белка-A, разбавленная в фосфатно-солевом буферном растворе (pH 7,6) с 1%-ным альбумином бычьей сыворотки, которая в качестве консерванта содержит азид натрия.

### Класс иммуноглобулинов

Клон AE1, иммуноглобулин подкласса G1 (IgG1).

Клон AE3, иммуноглобулин подкласса G1 (IgG1).

### Общая концентрация белка

Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 142,8 мг/л при определении методом ИФА. Концентрация иммуноглобулина, соответствующая данной серии, указана на этикетке флакона.

### Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

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

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

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

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

### Подготовка образцов

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



## Предупреждения и меры предосторожности

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

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

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 способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности.<sup>1</sup> Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом и не допускайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью. Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

## Контроль качества

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

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

## Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

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

Кожа является тканью, которую рекомендуется использовать в качестве положительного контроля.

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 ткани 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 неспецифически.<sup>3</sup> Неиммунное связывание белков или продуктов фиксации с субстратом может привести к ложноположительным результатам. Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах), эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, головном мозге или почке) в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания. Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифическое связывание ферментов от специфической иммуореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно хромогенным субстратом или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и хромогенным субстратом соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном контроле ткани результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

## Отрицательный контроль реактива

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

## Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы взятой у пациента ткани, которые окрашены с помощью NCL-L-AE1/AE3, 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

Клоны AE1/AE3 демонстрируют выраженную реакционную способность по отношению к кислым и основным семействам цитокератинов. Наблюдалось окрашивание цитоплазмы эпителиальных клеток различных типов тканей, включая железистый эпителий предстательной железы, молочной железы, кожи, эндометрия, надпочечников, яичек, поджелудочной железы и слюнных желез, а также клеток многослойного плоского и цилиндрического эпителия кожи, миндалин, шейки матки, гортани, пищевода, желудка, тонкого и толстого кишечника. Окрашивание также отмечалось в тканях гипофиза, в тельцах Гассала и ретикуле волоочковой железы, в альвеолах и пневмоцитах легких, в трубочках почек, а также в желчных путях и в печеночных гепатоцитах. (Общее число образцов исследованных нормальных тканей = 109).

### Патологически измененные ткани

Клоны AE1/AE3 окрашивали 70/71 случая опухолей молочной железы (включая 50/51 случая карциномы протоков, 8/8 случаев медуллярной карциномы, 8/8 случае инвазивной карциномы долек молочной железы и 4/4 случаев смешанной протоковой и дольковой карциномы), 5/5 случаев аденокарциномы желчного пузыря, 3/3 случаев плоскоклеточной карциномы пищевода, 3/3 случаев аденокарциномы желудка, 3/3 случаев аденокарциномы легкого, 3/3 случаев аденокарциномы поджелудочной железы, 2/3 случаев аденокарциномы толстой кишки, 3/3 случаев карциномы переходных клеток мочевого пузыря, 3/3 случаев плоскоклеточной карциномы шейки матки, 2/3 случаев астроцитомы, 2/2 случаев папиллярной карциномы щитовидной железы, 2/2 случаев аденокарциномы простаты и 0/3 случаев светлоклеточной почечной карциномы. (Общее число исследованных патологически измененных образцов = 107).

**NCL-L-AE1/AE3 рекомендуется использовать для обнаружения цитокератинов в здоровых и пораженных опухоли тканях в качестве дополнения к обычным гистопатологическим исследованиям с неиммунологическим гистохимическим окрашиванием.**

### **Общие ограничения**

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

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

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

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

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

### **Литература — общая**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

### **Дополнения к предыдущему выпуску**

Состав реактивов, суммарная концентрация белка, концентрация антител, рекомендации по использованию, предупреждения и меры предосторожности, предполагаемые результаты.

### **Дата выпуска**

31 Май 2019 г.

# Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™

## Multi-Cytokeratin

### Kod produktu: NCL-L-AE1/AE3

#### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

NCL-L-AE1/AE3 jest przeznaczony do badań jakościowych identyfikacji za pomocą mikroskopii świetlnej cząsteczek cytokeratyny w skrawkach parafinowych. Klinczną 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

Koktajl dwóch klonów, AE1 i AE3, zmieszanych w proporcjach 20:1.

#### Immunogen

Preparat ludzkich cytokeratyn epidermalnych.

#### Swoistość

Klon AE1 rozpoznaje ludzkie cytokeratyny 56.5, 50, 50', 48 i 40 kD z podrodziny kwaśnej.

Klon AE3 rozpoznaje 65 do 67, 64, 59, 58, 56 i 52 kD z podrodziny zasadowej.

#### Skład odczynnika

NCL-L-AE1/AE3 to mysi płyn puchlinowy oczyszczony za pomocą chromatografii z wykorzystaniem białka A, rozcieńczony solą fizjologiczną buforowaną fosforanami (pH 7,6) z 1% białka nośnikowego albuminy bydłowej, zakonserwowany azydkiem sodu.

#### Klasa Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### Całkowite stężenia białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 142,8 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA. Stężenie Ig (immunoglobuliny) w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

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

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

**Wizualizacja:** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania dołączoną 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](http://www.LeicaBiosystems.com)

Jeżeli przeciwciało jest używane jednocześnie z innymi ręcznymi metodami barwienia lub platformami automatycznymi, należy zwerifikować 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 fiołki. Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika.

#### Przygotowanie próbek

Zalecany 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 azydki sodu. Karta charakterystyki jest udostępniana na żądanie lub można ją pobrać ze strony [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Próbki, przed i po utwaleniu oraz wszystkie materiały mające z nimi kontakt należy traktować jako potencjalnie zakaźne i usuwać przy zachowaniu odpowiednich środków ostrożności.<sup>1</sup> Nigdy nie zasysać odczynników ustami podczas pobierania pipetą oraz unikać kontaktu odczynników i próbek badanych ze skórą i błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza. Chronić odczynnik 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. Wszystkie 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 utwalonych, przetworzonych i zatopionych w parafinie, taką samą metodą, jaką badane są pobrane tkanki.

## Tkankowa kontrola pozytywna

Stosowana w celu wskazania prawidłowo przygotowanych tkanek i prawidłowych technik barwienia. W każdej serii barwienia każdy zestaw warunków testowych powinien uwzględniać jedną tkankową kontrolę pozytywną. Do optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej nadaje się tkanka o słabym barwieniu pozytywnym niż tkanka o silnym barwieniu pozytywnym.<sup>2</sup>

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować skórę.

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 antygenu przez przeciwciała pierwszorzędowe.

Tkankowa kontrola negatywna powinna obejmować mięśnie szkieletowe.

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

## Negatywna kontrola odczynnika

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

## Tkanka pacjenta

Próbki pacjenta wybarwione testem NCL-L-AE1/AE3 należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego niespecyficznego barwienia tła podczas 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

Klony AE1/AE3 wykazują wysoką reaktywność z kwaśnymi i zasadowymi rodzinami cytokeratyn. Barwienie obserwowano w cytoplazmie komórek nabłonkowych z różnych tkanek, w tym gruczolowego nabłonka gruczołu krokowego, sutka, skóry, tarczycy, endometrium, gruczołu nadnercza, jądra, trzustki i gruczołu ślinowego oraz nabłonka płaskiego i walcowatego skóry, migdałków, szyjki macicy, przelyku, krtani, żołądka oraz jelita cienkiego i grubego. Stwierdzono również barwienie w przysadce mózowej, ciałkach Hassalla i retikulum w grasicy, pęcherzykach płucnych i pneumocytach w płucach, kanalikach nerkowych oraz w drogach żółciowych i hepatocytach wątroby. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych tkanek = 109).

### Tkanki nieprawidłowe

Klony AE1 / AE3 wybarwiły 70/71 nowotworów sutka (w tym 50/51 inwazyjnych raków przewodowych, 8/8 raków rdzeniowych, 8/8 inwazyjnych raków zrazikowych i 4/4 mieszane raki przewodowo-zrazikowe), 5/5 gruczolakoraków pęcherzyka żółciowego, 3/3 raki płaskonabłonkowe przelyku, 3/3 gruczolakoraki żołądka, 3/3 gruczolakoraki płuca, 3/3 gruczolakoraki trzustki, 2/3 gruczolakoraki okrężnicy, 3/3 raki przejściowokomórkowe pęcherza moczowego, 3/3 raki płaskonabłonkowe szyjki macicy, 2/3 gwiaździanki, 2/2 raki brodawkowate tarczycy, 2/2 gruczolakoraki gruczołu krokowego i 0/3 raki jasnokomórkowe nerki. (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 107).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-AE1/AE3 do wykrywania cytokeratyn w tkankach zdrowych i nowotworowych, 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 zatapiania lub nieprawidłowości związanej z tkanką.<sup>4</sup>

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

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

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

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

Skład odczynnika, Całkowite stężenie białka, Stężenie przeciwciała, Zalecenia dotyczące stosowania, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Spodziewane wyniki.

## Data publikacji

31 maja 2019

# Tekočinsko monoklonsko protitelo Novocastra™ iz miši

## Multi-Cytokeratin

### Koda izdelka: NCL-L-AE1/AE3

#### Predvidena uporaba

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Izdelek NCL-L-AE1/AE3 je namenjen za kvalitativno identifikacijo molekul citokeratina v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. 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.

#### 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

Koktajl dveh klonov, AE1 in AE3, zmešan v razmerju 20:1.

#### Imunogen

Priprava človeškega epidermalnega citokeratina.

#### Specifičnost

Klon AE1 prepozna človeške citokeratine kisle poddružine z molsko maso 56,5, 50, 50', 48 in 40 kD.

Klon AE3 prepozna človeške citokeratine bazične poddružine z molsko maso 65 do 67, 64, 59, 58, 56 in 52 kD.

#### Sestava reagenta

NCL-L-AE1/AE3 je ascitesna tekočina miši, prečiščena s kromatografijo proteina A, razredčena v fiziološki raztopini s fosfatnim pufrom (pH 7,6) z 1 % govejega serumskega albumina kot nosilno beljakovino, ki kot konzervans vsebuje natrijev azid.

#### Razred Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### Skupna koncentracija beljakovin

Total Protein

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

#### Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 142.8 mg/l, določena s testom ELISA. Za specifično koncentracijo Ig v seriji glejte oznako na viali.

#### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

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

**Predlagano redčenje:** 1 : 200, 30 minut pri 25 °C. To so samo smernice; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne 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 [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

#### Shranjevanje in stabilnost

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

#### Priprava vzorcev

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

#### Opozorila in previdnostni ukrepi

Vir priprave tega reagenta je supernatant celične kulture. Ker je to biološki izdelek, je treba z njim ravnati z ustrežno skrbnostjo.

Ta reagent vsebuje natrijev azid. Varnostni list je na voljo na zahtevo ali na spletnem mestu [www.LeicaBiosystems.com](http://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 rokavati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim ukrepom.<sup>1</sup> Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo in sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

Pazite, da ne pride do mikrobnih okužb reagentov, saj lahko povzročijo nespecifično barvanje. Če uporabite čas ali temperature inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

## Kontrola kakovosti

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

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

## Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

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

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

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

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo kožno tkivo.

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 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 nespecifično.<sup>3</sup> Lažno pozitivni rezultati se lahko pojavijo zaradi ne-imunološke 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 imunске 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 antigenskem 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-AE1/AE3. 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

Klona AE1/AE3 kaže široko reaktivnost s kislimi in bazičnimi družinami citokeratinov. Opazili so obarvanje v citoplazmi epitelijskih celic različnih tkiv, vključno z žleznim epitelijem prostate, dojke, kože, ščitnice, endometrija, nadledvične žleze, testisa, trebušne slinavke in slinavke, ter ploščatega in cilindričnega epitelija kože, tonzil, materničnega vratu, požiralnika, grla, želodca ter tankega in debelega črevesa. Obarvanje so opazili tudi v hipofizi, Hassallovih telescih in retikulumu v priželjcu, alveolah in pnevmocitih v pljučih, tubulih ledvic ter v žolčevodih in hepatocitih jeter. (Skupno število ocenjenih normalnih tkiv = 109).

### Nenormalna tkiva

Klona AE1/AE3 so obarvali 70/71 tumorjev dojke (vključno s 50/51 invazivnimi karcinomi duktov, 8/8 medularnih karcinomov, 8/8 invazivnih lobularnih karcinomov in 4/4 mešanih karcinomov duktusov-lobusov), 5/5 adenokarcinomov žolčnika, 3/3 skvamozne celične karcinome požiralnika, 3/3 adenokarcinome trebuha, 3/3 adenokarcinome pljuč, 3/3 adenokarcinome trebušne slinavke, 2/3 adenokarcinome debelega črevesa, 3/3 tranzicijocelularne karcinome mehurja, 3/3 skvamozne celične karcinome materničnega vratu, 2/3 astroцитome, 2/2 papilarna karcinoma ščitnice, 2/2 adenokarcinoma prostate in 0/3 ledvične svetlocelične karcinome. (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 107).

**Izdelek NCL-L-AE1/AE3 se priporoča za zaznavanje citokeratinov v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunoloških histokemijskih barvil.**

## Splošne omejitve

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

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegovo obdelavo pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odtajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko 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 samega. Prekomerno ali nepopolno nasprotno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno tolmačenje rezultatov.

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

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

## Splošna literatura

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

## Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji

Sestava reagentov, Skupna koncentracija beljakovin, Koncentracija protiteles, Priporočila za uporabo, Opozorila in previdnostni ukrepi, Pričakovani rezultati.

## Datum izdaje

31. maj 2019



# Novocastra™ Tekutá myší monoklonální protilátka

## Multi-Cytokeratin

### Kód výrobku: NCL-L-AE1/AE3

#### Zamýšlené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-AE1/AE3 je určen ke kvalitativnímu stanovení cytokeratinových molekul světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

#### Princip metody

Imunohistochemické (IHC) barvicí techniky umožňují vizualizaci antigenů pomocí sekvenční aplikace specifické protilátky proti antigenu (primární protilátka), sekundární protilátky proti primární protilátce a enzymového komplexu s chromogenním substrátem s interponovanými omyvacími 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

Směs dvou klonů, AE1 a AE3, v poměru 20:1.

#### Imunogen

Příprava lidského epidermálního cytokeratinu.

#### Specifita

Klon AE1 rozpoznává lidské cytokeratiny 56,5, 50, 50', 48 a 40 kD kyselého podrodiny.

Klon AE3 rozpoznává lidské cytokeratiny 65 až 67, 64, 59, 58, 56 a 52 kD zásadité podrodiny.

#### Složení reagentie

Produkt NCL-L-AE1/AE3 je tekutá myší ascitická tekutina purifikovaná proteinovou chromatografií A ředěná ve fosfátem pufovaném fyziologickém roztoku (pH 7,6) s 1% bovinním sérovým albuminem jako pěníšejším proteinem s azidem sodným jako konzervantem.

#### Třída Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### Koncentrace celkového proteinu

Total Protein

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

#### Koncentrace protilátek

142,8 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 k roztoku Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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

**Vizualizace:** Postupujte podle pokynů k použití k systémům Novolink™ Polymer Detection Systems. Další informace o produktu nebo podporu si vyžádejte od místního distributora nebo regionální kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo navštivte web Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

#### Skladování a stabilita

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

#### Příprava vzorku

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

#### Varování a bezpečnostní opatření

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

Tato reagentie obsahuje azid sodný. Bezpečnostní list materiálu je k dispozici na vyžádání nebo na webu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent produdujte ve federálních, státních nebo místních nařizováních.

Se vzorky před fixací i po fixaci a se všemi materiály jím vystavenými je nutno zacházet, jako by mohly způsobit přenos infekce, a likvidovat je s náležitými bezpečnostními opatřeními.<sup>1</sup> Reagentie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagentií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagentie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, 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 piteviny/bioptické/operační vzorky co nejdříve fixované formálním, zpracované a zalité do parafinového 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 barvením.<sup>2</sup>

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je kůže.

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 je kosterní sval.

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

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálním může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.<sup>3</sup> Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem 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 imunoreaktivitě 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-AE1/AE3. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešné negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klony AE1/AE3 manifestují širokou reaktivitu s kyselými a zásaditými rodinami cytokeratinu. Barvení bylo pozorováno u cytoplazmy epitelálních buněk z různých tkání, včetně glandulárního epitelu prostaty, prsu, kůže, štítné žlázy, endometria, nadledviny, varlete, pankreatu a slinné žlázy a skvamózního a sloupcového epitelu kůže, tonzily, cervixu, jícnu, hrtanu, žaludku a tenkého a tlustého střeva. Barvení bylo rovněž potvrzeno u hypofýzy, Hassalových tělísek a v retikulu v thymu, alveolách a pneumocytech u plic, tubulech u ledvin a ve žlučovýchodech a u hepatocytů jater (Celkový počet hodnocených normálních tkání = 109).

### Abnormální tkáň

Klony AE1/AE3 barvil 70/71 nádorů prsu (včetně 50/51 invazivních ductálních karcinomů, 8/8 medulárních karcinomů, 8/8 invazivních lobulárních karcinomů a 4/4 ductálních-lobulární smíšených karcinomů), 5/5 adenokarcinomů žlučníku, 3/3 dlaždicobuněčných karcinomů jícnu, 3/3 adenokarcinomů žaludku, 3/3 adenokarcinomů plic, 3/3 adenokarcinomů slinivky, 2/3 adenokarcinomů tlustého střeva, 3/3 karcinomů z transičních buněk močového měchýře, 3/3 dlaždicobuněčných karcinomů děložního hrdla, 2/3 astrocytomů, 2/2 papilárních karcinomů štítné žlázy, 2/2 adenokarcinomů prostaty a 0/3 renálních světlobuněčných karcinomů. (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 107).

**Produkt NCL-L-AE1/AE3 se doporučuje použít k detekci cytokeratinů v normálních a neoplastických tkáních jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.**

## Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je víceokrový 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 kontaminaci jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití v konzervačním médiu nebo přirozených odchylek ve tkáni.<sup>4</sup>

Nadměrné nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

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

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

## Literatura - všeobecná

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *The Journal of Cell Biology*. 1982; 95:580–588.

## Opravy předchozího vydání

Složení reagentie, Koncentrace celkového proteinu, Koncentrace protilátek, Doporučení k použití, Varování a bezpečnostní opatření, Očekávané výsledky.

## Datum vydání

31 květen 2019

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

## Multi-Cytokeratin

### Kód produktu: NCL-L-AE1/AE3

#### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-AE1/AE3 slúži na kvalitatívnu identifikáciu molekúl cytokeratínu 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

Kokteil dvoch klonov AE1 a AE3, zmiešaný v pomere 20:1.

#### Imunogén

Preparát z ľudského epidermálneho cytokeratínu.

#### Špecificita

Klon AE1 rozoznáva ľudské cytokeratíny 56, 5, 50, 50', 48 a 40 kD z podskupiny kyselín.

Klon AE3 rozoznáva ľudské cytokeratíny 65 až 67, 64, 59, 58, 56 a 52 kD z podskupiny zásad.

#### Zloženie činidla

NCL-L-AE1/AE3 je tekutá myšia ascitická tekutina purifikovaná chromatografiou proteínu A, zriedená vo fyziologickom roztoku chloridu sodného pufovanom fosfátom (pH 7,6) s 1 % transportným proteínom bovinného sérového albumínu obsahujúca azid sodný ako konzervačnú látku.

#### Trieda Ig

AE1, IgG1

AE3, IgG1

#### Celková koncentrácia proteínov

Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 142,8 mg/l podľa ELISA. Koncentráciu Ig špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

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

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

**Vizualizácia:** Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink™ Polymer Detection Systems (Polymérové detekčné systémy).

Ďalšie informácie o produkte alebo podporu vám poskytne váš miestny distribútor alebo lokálne zastúpenie spoločnosti Leica Biosystems. Takisto môžete navštíviť internetovú stránku spoločnosti Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Pri použití s inými manuálnymi systémami farbenia alebo automatizovanými platformami je nutné potvrdiť funkčnosť tejto protilátky.

#### Uskladnenie a stabilita

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

#### Príprava vzorky

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

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

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

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

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

So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrní.<sup>1</sup> Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc. Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia. Nedodržanie predpísaných 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 farbením je pre optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.<sup>2</sup>

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je koža.

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 špecifitu 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 nešpecificky.<sup>3</sup> Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj endogénnymi enzýmami, ako napr. pseudoperoxidázou (erythrocyty), endogénnou peroxidázou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeň, prsník, mozog, oblička) v závislosti od typu imunologickeho 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-AE1/AE3 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného

nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly činidlom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testov 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

Klony AE1/AE3 vykazujú širokú reaktivitu s kyslými a zásaditými skupinami cytokeratínov. Farbenie bolo pozorované v cytoplazme epitelových buniek z rôznych tkanív vrátane žľazového epitelu prostaty, prsníka, kože, štítnej žľazy, endometria, nadobličky, semenníka, pankreasu a slinnej žľazy a skvamózneho a kolumnárneho epitelu kože, tonzily, krčka, pažeráka, hrtanu, žalúdka, tenkého a hrubého čreva. Zafarbenie bolo taktiež zaznamenané v hypofýze, v Hassalových telieskach a retikule detskej žľazy, v alveoloch a pneumocytoch pľúc, v kanálikoch obličiek a v žilovodoch a hepatocytoch pečene. (Celkový počet normálnych vyšetrených tkanív = 109).

### Abnormálne tkanivá

Klony AE1/AE3 zafarbili 70/71 nádorov prsníka (vrátane 50/51 invazívnych duktálnych karcinómov, 8/8 medulárnych karcinómov, 8/8 invazívnych lobulárnych karcinómov a 4/4 duktálno-lobulárnych zmiešaných karcinómov), 5/5 adenokarcinómov žľazníka, 3/3 dlaždicovobunkových karcinómov pažeráka, 3/3 adenokarcinómov žalúdka, 3/3 adenokarcinómov pľúc, 3/3 adenokarcinómov pankreasu, 2/3 adenokarcinómov hrubého čreva, 3/3 karcinómov močového mechúra z prechodných buniek, 3/3 dlaždicovobunkových karcinómov krčka maternice, 2/3 astrocytómov, 2/2 papilárnych karcinómov štítnej žľazy, 2/2 adenokarcinómov prostaty a 0/3 renálnych svetlobunkových karcinómov. (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 107).

**Prípravok NCL-L-AE1/AE3 sa odporúča na detekciu cytokeratínov v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie použitím 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, premývanie, sušenie, ohrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami či tekutinami môžu viesť k vzniku artefaktov, záchytu protilátok alebo falošne negatívnym výsledkom. Inkonzistentné výsledky môžu byť spôsobené zmenami metód fixácie a montáže preparátov alebo inherentnými nepravidłnosťami v tkanive.<sup>4</sup>

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

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

Protilátky spoločnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd sú určené na použitie na zmrazených rezoch alebo rezoch zaliatých 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, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

## Úpravy predchádzajúceho vydania

Zloženie činidla, Celková koncentrácia proteínov, Koncentrácia protilátok, Odporúčania na použitie, Varovania a bezpečnostné opatrenia, Očakávané výsledky.

## Dátum vydania

31 Smieť 2019

# Novocastra™ جسم مضاد أحادي النسيلة سائل لدى الفئران

## Multi-Cytokeratin

### رمز المنتج: NCL-L-AE1/AE3

#### الاستعمال المستهدف

مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.  
NCL-L-AE1/AE3 مصمم من أجل التحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لحزيمات السيتوكيراتين في مقاطع البارافين. ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّخ أو غيابها من خلال الدراسات المورفولوجية والمواد الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

#### مبدأ الإجراء

تسمح تقنيات التلوين الكيميائي المناعي (IHC) بتصور المستضدات عبر التطبيق المتسلسل لجسم مضاد معين إلى المستضد (الجسم المضاد الأولي)، وهو جسم مضاد ثانوي للجسم المضاد الأولي ومجموع إنزيم مع ركازة مؤلّنة للون مع خطوات غسل متداخلة. ينتج التنشيط الإنزيمي للكروموجين مؤلّد اللون منتج تفاعل مرئي في موقع المستضد. ومن ثم يمكن بعدها استخدام صبغة ملوّنة شبيهة للعينة وتغطيتها بورقاة زجاجية على شريحة مجهر. يتم تفسير النتائج باستخدام المجهر الضوئي والمساعدة في التشخيص التفريقي للمخيمات الفيزيولوجية المرضية، والتي قد ترتبط أو لا ترتبط بمستضد معين.

#### مستنسخ

كوكيتل من اثنين من المستنسخات، AE1 و AE3 ، مختلطين بنسبة 20:1.

#### مستضد

تحضير سيتوكيراتين جلدي بشري.

#### خصوصية

يعرف مستنسخ AE1 على بروتينات سيتوكيراتين البشرية زنة 56.5، 50، 50، و48، و40 كيلو دالتون بالفصيلة الحمضية.

يعرف مستنسخ AE3 على بروتينات سيتوكيراتين البشرية زنة 65 إلى 67، 64، 59، 58، 56، و52 كيلو دالتون بالفصيلة القاعدية.

#### تكوين الكاشف

NCL-L-AE1 / AE3 عبارة عن سائل استقصاء سائل لدى الفئران ينقى بواسطة بروتين فصل استشرابي أ مخفف في محلول ملحي فوسفاتي محمي (درجة حموضة 7.6) مع 1% بروتين حامل الألبومين متصل بقرى يحتوي على مزيد الصوديوم كمادةحافظة.

#### فئة الغلوبولين المناعي

AE1 , IgG1

AE3 , IgG1

#### تركيز البروتين الكلي

راجع ملصق تسمية القارورة لتشغيلة محددة من تركيز البروتين الكلي.

#### تركيز الجسم المضاد

أكبر من أو يساوي 142.8 جملتر/حسبما تحدد مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA). راجع ملصق تسمية القارورة لنفحة محددة من تركيز الغلوبولين المناعي.

#### توصيات حول الاستخدام

تقنية الكيمياء النسيجية المناعية على مقاطع البارافين.

استرجاع الحاتمة المثلئ بالحرارة (HIER): يُرجى اتباع التعليمات لاستخدامها في محلول استرجاع الحاتمة ذي الأس الهيدروجيني 6 من Novocastra .

التخفيف المقترح: 1: 200 لمدة 30 دقيقة في 25° مئوية. يتم توفير هذا كدليل ويجب على المستخدمين تحديد التخفيفات المثالية للعمل الخاصة بهم.

التصور: يُرجى اتباع التعليمات لاستخدامها في أنظمة الكشف عن البوليمر Novolink™. لمزيد من المعلومات أو الدعم عن المنتج، اتصل بالموزع المحلي أو المكتب الإقليمي لشركة Leica Biosystems

Biosystems ، أو بدلاً من ذلك، قم بزيارة موقع ويب [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) ، Leica Biosystems

يجب التحقق من صحة أداء هذا الجسم المضاد عند استخدامه مع أنظمة التلوّخ اليدوية أو المنصات الآلية الأخرى.

#### التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. يجب عدم تعميده أعد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرةً. لا يُستعمل بعد تاريخ انتهاء الصلاحية المونون على ملصق الزجاجية. يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه.

#### إعداد العينة

المثبّت الموصى به هو الفورمالين المحمي المحايد 10% لمقاطع الأنسجة المنمجة في البارافين.

#### تحذيرات واحتياطات

تم إعداد هذا الكاشف من المادة المسائلة الطافية من مزرعة الخلية. بما أنه منتج بيولوجي، يجب توخي الحذر عند التعامل معه.

يحتوي هذا الكاشف على مزيد الصوديوم. تتوفر ورقة بيانات سلامة المواد عند الطلب أو متوفرة من [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

راجع الأنظمة الفيزيائية أو الخاصة بالولابة أو المحلية بشأن التخلص من أي مكونات قد تكون سامة.

ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة. لا تلم باستخدام

الكواشف أبداً في الأنيوب الماصة عن طريق القم وتجنب ملامسة الكواشف والعيّنات تحتك بمناطق حساسة، فغليك بغسل هذه المناطق

بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.

قلّل التلوث الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلوّخ غير المحدد.

قد تؤدي أوقات الحضانة أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أي تغيير كهذا من جانب المستخدم.

## ضبط الجودة

قد تؤدي الاختلافات في معالجة الأسسجة والإجراءات التقنية في مختبر المستخدم إلى حدوث تباين كبير في النتائج، مما يتطلب الأداء المنتظم للضوابط الداخلية بالإضافة إلى الإجراءات التالية. يجب أن تكون ضوابط عينات تشريح / خزعة / جراحية جديدة، ومثبتة بالفورمالين، ومعالجة، ومضمنة في شمع البرافين في أسرع وقت ممكن بنفس الطريقة مثل عينة (عينات) المريض.

## ضباط النسيج الإيجابي

يستخدم للإشارة إلى الأسسجة التي تم إعدادها بصورة صحيحة وأساليب التلطيح السليمة.

يجب تضمين نسيج إيجابي واحد لكل مجموعة من ظروف الاختبار في كل عملية تلوين.

يكون النسيج ذو التلوين الإيجابي الضعيف ملائماً بصورة أكبر من النسيج ذي التلوين الإيجابي القوي، وذلك بغرض ضبط الجودة المثلى والكشف عن مستويات طفيفة من تدهور الكاشف<sup>2</sup>.

ضباط النسيج الإيجابي الموصى به هو الجلد.

إذا فشل ضباط النسيج الإيجابي في إظهار التلوين الإيجابي، فينبغي اعتبار نتائج عينات الاختبار غير صحيحة.

## ضباط النسيج السلبي

ينبغي فحصه بعد ضباط النسيج الإيجابي للتحقق من خصوصية وضع تسميات وعلامات للمستضد المستهدف عن طريق الأجسام المضادة الأولية.

ضباط النسيج السلبي الموصى به هو العضلات الهيكلية.

وبدلاً من ذلك، هناك مجموعة متنوعة من مختلف أنواع الخلايا الموجودة في معظم قطاعات النسيج توفر في كثير من الأحيان مواقع التحكم السلبي، ولكن يجب التحقق من هذا من جانب المستخدم.

إن التلوين غير المحدد، إن وجد، عادةً ما يكون له مظهر منتشر. كما يمكن ملاحظة تلوين متقطع للنسيج الضام في مقاطع من الأنسجة المثبتة بالفورمالين بإفراط. استخدام الخلايا السليمة لتفسير نتائج التلوين، غالباً ما تصنع الخلايا الميتة أو المحللة بشكل غير محدد. يمكن رؤية النتائج الإيجابية الكاذبة بسبب الارتباط غير المناعي للبروتينات أو منتجات تفاعل الركيزة. قد تحدث أيضاً بسبب إنزيمات داخلية مثل البيروكسيداز الزائف (كربات الدم الحمراء)، أو البيروكسيداز ذاتي المنشأ

(السيتوكروم سي)، أو البيوتين ذاتي المنشأ (مثل الكبد، الثدي، المخ، الكلى) اعتماداً على نوع الصبغ المناعي المستخدم. للتمييز بين نشاط إنزيم ذاتي المنشأ أو ارتباط غير محدد من الإنزيمات من نوع معين من التفاعلية المناعية، قد يتم تلوين أنسجة المريض الإضافية بشكل حصري بمركبات الركيزة أو كروموجين الركيزة (أفيدين-البيروتين، ستربتايفين، البوليمر الموسوم) وكروموجين الركيزة، على التوالي. إذا حدث تلوث محدد في ضباط النسيج السلبي، يجب اعتبار نتائج عينات المرضى غير صالحة.

## ضباط الكاشف السلبي

استخدم ضباط كاشف سلبي بدلاً من الأجسام المضادة الأولية مع قطاع من كل عينة من المرضى لتقييم التلوين غير المحدد والسماح بتفسير التلوين المحدد في موقع الجسم المضاد بشكل أفضل.

## نسيج المريض

فحص عينات المرضى المطلحة بـ NCL-L-AE1/AE3 في النهاية. ينبغي تقييم كثافة التلوين الإيجابي في سياق أي تلوين غير محدد بتلوين الخلفية لضباط الكاشف السلبي. كما هو الحال مع أي اختبار كيميائي هيستولوجي مناعي، فإن النتيجة السلبية تعني أن المستضد لم يتم اكتشافه، وليس أن المستضد غير موجود في الخلايا/الأنسجة التي تمت معايرتها. إذا لزم الأمر، استخدم لوحة من الأجسام المضادة لتحديد التفاعلات السلبية الكاذبة.

## النتائج المتوقعة

### الأنسجة العادية

يُظهر المستنسخات AE1/AE3 تفاعلية واسعة مع العائلات الأساسية والحمضية من السيبتوكيراتين. وقد لوحظ وجود تلوين في سيتوبلازم الخلايا الظهارية من مجموعة متنوعة من الأنسجة، بما في ذلك الظهارية الغدية من البروستاتا، والثدي، والجلد، والغدة الدرقية، وبطانة الرحم، والغدة الكظرية، والخصية، والبنكرياس، والغدة اللعابية، والظهارة الحشوية والعمودية من الجلد، واللوزتين، وعنق الرحم، والمريء، والحنجرة، والمعدة، والأمعاء الصغيرة والكبيرة. ولوحظ أيضاً وجود تلوين في الغدة النخامية، وأجسام هاسل والشبكة في الغدة الصعترية، والحويصلات الهوائية، والتمكيسات الهوائية في الرئة، وأنبيب وكيسولة بومان في الكلى، والخلايا الكبدية والقنوات الصفراوية في الكبد. (إجمالي عدد الأنسجة الطبيعية التي تم تقييمها = 109).

### الأنسجة الورمية

مستنسخات AE1/AE3 تلخت 71/70 من أورام الثدي (ومنها 51/50 أورام سرطانية قوية غزوية، و8/8 سرطان نخاعي، و8/8 أورام سرطانية قلبية غزوية، و4/4 أورام سرطانية مختلطة قوية قلبية)، 5/5 أورام سرطانية بالمرارة، 3/3 سرطان الخلايا الحشوية بالمريء، 3/3 سرطان المعدة الغدي، 3/3 سرطان الرئة الغدي، 3/3 سرطان البنكرياس الغدي، 3/2 سرطان القولون الغدي، 3/3 سرطان الخلايا الانتقالية بالمثانة، 3/3 سرطان الخلايا الحشوية بعنق الرحم، 3/2 سرطان الخلايا النجمية، 2/2 ورم سرطاني حليمي بالغدة الدرقية، 2/2 سرطان البروستاتا الغدي، و3/0 سرطان الخلايا الصافية الكلوية. (إجمالي عدد الحالات غير العادية التي تم تقييمها = 107).

**يُنصح باستخدام NCL-L-AE1/AE3 في الكشف عن السيبتوكيراتين في الأنسجة العادية والورمية، كعامل مساعد في علم أمراض الأنسجة التقليدي باستخدام التلوين غير المناعي الخاص بعلم الأنسجة الكيميائي الحيوي.**

## القيود العامة



الكيمياء الهيستولوجية المناعية هي عملية تشخيصية متعددة الخطوات تتكون من تدريب متخصص في اختيار الكواشف المناسبة؛ واختيار الأنسجة، والتثبيت، والمعالجة؛ وإعداد شريحة IHC؛ وتفسير نتائج التلطّيح.

يعتمد تلوّح الأنسجة على معالجة وتجهيز الأنسجة قبل التلطّيح. قد يؤدي التثبيت، أو التجميد، أو الذوبان، أو الغسيل، أو التجفيف، أو التسخين، أو التقسيم غير السليم أو التلوّث مع الأنسجة أو السوائل الأخرى إلى إنتاج ضمني، أو احتجاز المستضدات، أو نتائج سلبية كاذبة. قد تكون النتائج غير المتناسقة بسبب الاختلافات في أساليب التثبيت والدمج، أو إلى عيوب كاملة داخل الأنسجة.<sup>4</sup>

قد يؤثر التلطّيح المُباين المفرط أو غير المكتمل على التفسير الصحيح للنتائج.

ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّح أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والاضوابط الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

الأجسام المضادة من Leica Biosystems Newcastle Ltd مصممة للاستخدام، كما هو محدد، على القطاعات المجمدة أو المثبتة بالبارافين مع متطلبات تثبيت محددة. قد يحدث تعبير مستضد غير متوقع، وخاصة في الأورام. يجب أن يشمل التفسير السريري لأي مقطع نسيج مُلطّح التحليل المورفولوجي وتقييم الضوابط المناسبة.

#### قائمة المراجع - عام

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. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1985; 33(5):465–473.
6. Weiss RA, Eichner R and Sun T-T. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes. The Journal of Cell Biology. 1984; 98:1397–1406.
7. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, et al. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. Cell. 1982; 30:361–372.
8. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, et al. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:580–588.

#### تعديلات على الإصدار السابق

تركيب الكاشف، تركيز البروتين الكلي، تركيز الأجسام المضادة، توصيات حول الاستخدام، التحذيرات والاحتياطات، النتائج المتوقعة.

#### تاريخ الإصدار

31 مايو 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