

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD15 (MMA)



**Product Code: NCL-L-CD15-605**

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



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

## Instructions for Use

Please read before using this product.

### Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

### Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

### Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

### Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

### Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

### Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

### Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

### Bruksanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

### Gebbruksinstructies

Lezen vóór gebruik van dit product.

### Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

### Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

### Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

### Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

### Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

### Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

### Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

### Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

### Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

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

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

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

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Пред применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD15 (MMA)

## Product Code: NCL-L-CD15-605

### Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-CD15-605 is intended for the qualitative identification by light microscopy of human CD15 protein in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

### Principle of Procedure

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

### Clone

MMA.

### Immunogen

BALB/C mice injected with U937 histiocytic cell line.

### Specificity

Human CD15 antigen.

### Reagent Composition

NCL-L-CD15-605 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

### Ig Class

IgM.

### Total Protein Concentration

Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

### Antibody Concentration

Not Applicable.

### Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

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

**Suggested dilution:** 1:100 for 30 minutes at 25 °C. This is provided as a guide and users should determine their own optimal working dilutions.

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

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-CD15-605 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

## Results Expected

### Normal Tissues

Clone MMA detected the CD15 protein on the cell membrane and in the cytoplasm of epithelial cells and granulocytes in a variety of tissues evaluated. Staining was also observed in neuropil of the cerebrum and cerebellum, Leydig cells in testis, myeloid cells in bone marrow and Hassall's corpuscles in thymus. (Total number of normal cases evaluated = 121).

### Abnormal Tissues

Clone MMA stained 38/46 hematological malignancies (including 38/44 Hodgkin's lymphomas, 0/1 anaplastic large cell lymphomas, and 0/1 non-Hodgkin's B-cell lymphoma). Clone MMA also stained 8/9 bowel tumors, 4/5 thyroid tumors, 4/5 metastatic tumors, 4/4 lung tumors, 3/3 adenocarcinomas of the stomach, 3/3 breast tumors, 2/4 hepatocellular adenocarcinomas, 2/3 ovarian tumors, 2/3 squamous cell carcinomas of the esophagus, 2/2 clear cell carcinomas of the kidney, 2/2 prostatic adenocarcinomas, 2/2 transitional cell carcinomas of the bladder, 2/2 tumors of the salivary gland, 1/2 tumors of the adrenal gland, 1/2 endometrial adenocarcinomas, 1/1 pancreatic adenocarcinoma, 1/1 adenocarcinoma of the head and neck and 1/1 squamous cell carcinoma of the tongue. No staining was detected in a variety of additional abnormal tissues evaluated, including brain tumors (0/4), bone tumors (0/2), seminomas (0/2), cervical tumors (0/2) and a melanoma (0/1) (Total number of abnormal cases evaluated = 111).

**NCL-L-CD15-605 is recommended for the detection of CD15 protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.**

## General Limitations

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

Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## **Amendments to Previous Issue**

Not Applicable

## **Date of Issue**

30 November 2018

# Anticorps monoclonal de souris liquide Novocastra™ CD15 (MMA)

## Référence du Produit : NCL-L-CD15-605

### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-CD15-605 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la protéine CD15 humaine sur 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

MMA.

### Immunogène

Souris BALB/C recevant une injection de cellules de lignée histiocytaire U937.

### Spécificité

Antigène CD15 humain.

### Composition du Réactif

Le NCL-L-CD15-605 est un supernageant de culture tissulaire liquide contenant un conservateur constitué d'azote de sodium.

### Classe d'Ig

IgM.

### Concentration Totale en Protéines Total Protein

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

### Concentration en Anticorps

Non applicable.

### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Récupération des épitopes induite par la chaleur (HIER, Heat Induced Epitope Retrieval) :** Respecter le mode d'emploi de la Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Dilution préconisée :** 1:100 durant 30 minutes à 25 °C. Ceci n'est donné qu'à titre indicatif et les utilisateurs doivent déterminer leurs propres dilutions de travail optimales.

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

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

### Conservation et Stabilité

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

### Préparation des Spécimens

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

### Mises en Garde et Précautions

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

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

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

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

Minimiser la contamination microbienne des réactifs sinon un accroissement du marquage non spécifique est susceptible de se produire. Des durées et des températures d'incubation différentes de celles qui ont été spécifiées sont susceptibles de conduire à des résultats erronés. Toutes les modifications doivent être validées par l'utilisateur.

## Contrôle de Qualité

Des différences de traitement des tissus et de procédures techniques du laboratoire de l'utilisateur sont susceptibles de conduire à une variabilité significative des résultats, ce qui rend nécessaire la mise en œuvre de contrôles en interne en plus des procédures suivantes. Les contrôles doivent être des spécimens frais provenant d'autopsies, de biopsies ou d'interventions chirurgicales, fixés au formol, traités et inclus en cire de paraffine dès que possible, de la même façon que le(s) échantillon(s) de patient.

## Tissu de Contrôle Positif

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

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

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

Le rein constitue le tissu de contrôle positif recommandé.

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

## Tissu de Contrôle Négatif

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

Le muscle squelettique constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

Si non, 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

Examinez les spécimens de patient marqués avec le NCL-L-CD15-605 en dernier. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

## Résultats Attendus

### Tissus normaux

Le clone MMA a détecté la protéine CD15 sur la membrane cellulaire et dans le cytoplasme des cellules épithéliales et des granulocytes dans une variété de tissus évalués. La coloration a également été observée au niveau du neuropile dans le cerveau et le cervelet, des cellules de Leydig dans la testicule, des cellules myéloïdes dans la moelle épinière et des corpuscules de Hassall dans le thymus. (Nombre total de cas normaux évalués = 121).

### Tissus anormaux

Le Clone MMA a marqué 38/46 malignités hématologiques (notamment 38/44 lymphomes de Hodgkin, 0/1 lymphomes anaplasiques à grandes cellules et 0/1 lymphome non hodgkinien à cellules B). Le Clone MMA a également marqué 8/9 tumeurs de l'intestin, 4/5 tumeurs de la thyroïde, 4/5 tumeurs métastatiques, 4/4 tumeurs du poulmon, 3/3 adénocarcinomes de l'estomac, 3/3 tumeurs du sein, 2/4 carcinomes hépatocellulaires, 2/3 tumeurs de l'ovaire, 2/3 carcinomes épidermoïdes de l'oesophage, 2/2 carcinomes à cellules claires du rein, 2/2 adénocarcinomes de la prostate, 2/2 carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie, 2/2 tumeurs de la glande salivaire, 1/2 tumeurs de la glande surrénale, 1/2 adénocarcinomes de l'endomètre, 1/1 adénocarcinome du pancréas, 1/1 adénocarcinome de la tête et du cou, et 1/1 carcinome épidermoïde de la langue. Aucun marquage n'a été observé dans une variété de tissus anormaux supplémentaires évalués, dont des tumeurs du cerveau (0/4), tumeurs osseuses (0/2), séminomes (0/2), tumeurs du col de l'utérus (0/2) et un mélanome (0/1) (Nombre total de cas anormaux évalués = 111).

**Le NCL-L-CD15-605 est recommandé pour la détection de la protéine CD15 dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histo-chimiques 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

Sans objet

## Date de Publication

30 novembre 2018



# Anticorpo monoclonale murino liquido Novocastra™ CD15 (MMA) Codice Del Prodotto: NCL-L-CD15-605

## Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-CD15-605 è previsto per l'identificazione qualitativa in microscopia ottica della proteina CD15 umana in sezioni 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 immunocitochimica (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

MMA.

## Immunogeno

Topi BALB/C iniettati con linea di cellule istiocitiche U937.

## Specificità

Antigene CD15 umano.

## Composizione Del Reagente

NCL-L-CD15-605 è un supernatante liquido di coltura tissutale contenente sodio azide come conservante.

## Classe Ig

IgM.

## Concentrazione Proteica Totale Total Protein

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

## Concentrazione Anticorpale

Non applicabile.

## Raccomandazioni Per L'uso

Immunocitochimica su sezioni incluse in paraffina.

**Recupero dell'epitopo mediante calore (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** seguire le istruzioni per l'uso accluse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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

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

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

## Conservazione E Stabilità

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

## Preparazione Del Campione Biologico

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

## Avvertenze E Precauzioni

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

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

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

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

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

## Controllo Qualità

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

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

## Controllo Positivo Del Tessuto

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

Per ogni gruppo di condizioni dei 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 il rene.

Se il controllo positivo del tessuto non dimostra colorazione positiva, i risultati con i campioni biologici dei 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 immunocolorezione 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-CD15-605. 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 immunistochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

## Risultati Attesi

### Tessuti normali

Il clone MMA ha rilevato la proteina CD15 sulla membrana cellulare e nel citoplasma delle cellule epiteliali e dei granulociti in svariati tessuti valutati. È stata inoltre osservata una colorazione nel neuropilo del cervello e del cervelletto, nelle cellule di Leydig del testicolo, nelle cellule mieloidi del midollo osseo e nei corpuscoli di Hassall del timo. (Numero complessivo di casi normali valutati = 121).

### Abnorme dei tessuti

Il clone MMA ha colorato 38/46 malignità ematologiche (compresi 38/44 linfomi di Hodgkin, 0/1 linfomi anaplastici a grandi cellule e 0/1 linfoma non Hodgkin a cellule B). Il clone MMA ha colorato anche 8/9 tumori intestinali, 4/5 tumori tiroidei, 4/5 tumori metastatici, 4/4 tumori polmonari, 3/3 adenocarcinomi dello stomaco, 3/3 tumori della mammella, 2/4 carcinomi epatocellulari, 2/3 tumori ovarici, 2/3 carcinomi dell'esofago a cellule squamose, 2/2 carcinomi del rene a cellule chiare, 2/2 adenocarcinomi prostatici, 2/2 carcinomi della vescica a cellule transizionali, 2/2 tumori della ghiandola salivare, 1/2 tumori della ghiandola surrenale, 1/2 adenocarcinomi endometriali, 1/1 adenocarcinoma pancreatico, 1/1 adenocarcinoma della testa e del collo e 1/1 carcinoma a cellule squamose della lingua. Non è stata rilevata alcuna colorazione in numerosi altri tessuti anomali valutati, tra cui tumori cerebrali (0/4), tumori ossei (0/2), seminomi (0/2), tumori della cervice (0/2) e un melanoma (0/1) (Numero complessivo di casi anomali valutati = 111).

**L'uso di NCL-L-CD15-605 è consigliato per il rilevamento della proteina CD15 in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale delle colorazioni istochimiche non immunologiche.**

## Limitazioni Generali

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

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

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

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

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

### **Riferimenti Bibliografici Di Base**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

### **Modifiche Alla Pubblicazione Precedente**

Non pertinente

### **Data Di Pubblicazione**

30 novembre 2018

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper CD15 (MMA) Produkt-Nr.: NCL-L-CD15-605

## Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-CD15-605 ist für den qualitativen Nachweis von humanem CD15-Protein in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie vorgesehen. 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

MMA.

## Immunogen

BALB/C-Mäuse, denen die Histozyten-Zelllinie U937 injiziert wurde.

## Spezifität

Humanes CD15-Antigen.

## Reagenzzusammensetzung

NCL-L-CD15-605 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand mit Natriumazid als Konservierungsmittel.

## Ig-Klasse

IgM.

## Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

## Antikörperkonzentration

Nicht anwendbar.

## Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten.

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

**Empfohlene Verdünnung:** 1:100 über einen Zeitraum von 30 Minuten bei 25 °C. Dies ist nur eine Empfehlung, und die Benutzer sollten ihre eigenen optimalen Arbeitsverdünnungen bestimmen.

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

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

## Lagerung und Stabilität

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

## Probenvorbereitung

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

## Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

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

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

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

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

### Qualitätskontrolle

Unterschiede bei der Gewebeparbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu signifikanten Schwankungen bei den Ergebnissen führen. Daher ist es wichtig, zusätzlich zu den folgenden Verfahren regelmäßige laborinterne Kontrollen durchzuführen. Die Kontrollen sollten mit frischen Autopsie-/Biopsie-/chirurgischen Proben vorgenommen werden, die so bald wie möglich und auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe(n) in Formalin fixiert, behandelt und in Paraffin eingebettet worden sind.

### Positive Gewebekontrolle

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Als positive Gewebekontrolle wird Niere 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.

Als negative Gewebekontrolle wird Skelettmuskulatur empfohlen.

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

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

### Negative Reagenzkontrolle

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

### Patientengewebe

Mit NCL-L-CD15-605 angefärbte Patientenproben zuletzt untersuchen. Eine positive Färbereintensität 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

Klon MMA konnte das CD15-Protein auf der Zellmembran und im Zytoplasma von Epithelzellen und Granulozyten in einer Anzahl untersuchter Gewebe nachweisen. Eine Färbung wurde auch im Neuropil des Groß- und Kleinhirns, in den Leydig-Zellen des Hodens, in myeloiden Zellen im Knochenmark und in den Hassall-Körperchen des Thymus beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeprobe(n) = 121).

#### Anomale Gewebe

Klon MMA färbte 38/46 bösartigen hämatologischen Erkrankungen (darunter 38/44 Hodgkin-Lymphomen, 0/1 anaplastischen großzelligen Lymphom und 0/1 Non-Hodgkin-B-Zell-Lymphom). Klon MMA färbte ebenfalls 8/9 Darmtumoren, 4/5 Schilddrüsentumoren, 4/5 metastatischen Tumoren, 4/4 Lungentumoren, 3/3 Adenokarzinomen des Magens, 3/3 Brusttumoren, 2/4 Leberzellkarzinomen, 2/3 Ovarialtumoren, 2/3 Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus, 2/2 hellzelligeren Nierenkarzinomen, 2/2 Prostata-Adenokarzinomen, 2/2 Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase, 2/2 Speicheldrüsentumoren, 1/2 Nebennierentumoren, 1/2 Endometrial-Adenokarzinomen, 1/1 Pankreas-Adenokarzinomen, 1/1 Kopf- und Hals-Adenokarzinomen und 1/1 Plattenepithelkarzinom der Zunge. Bei einer Reihe weiterer untersuchter abnormer Gewebe, darunter Gehirntumore (0/4), Knochentumore (0/2), Seminome (0/2), Zervixtumore (0/2) und ein Melanom (0/1), wurde keine Färbung nachgewiesen (Anzahl der insgesamt untersuchten pathologischen Gewebeprobe(n) = 111).

**NCL-L-CD15-605 wird für den Nachweis von CD15-Protein 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. 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. Translational Oncology. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. The American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? Haematologica. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. The American Journal of Surgical Pathology. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. The American Journal of Surgical Pathology. 2003; 27(12):1513-1522.

## Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

Nicht anwendbar

## Ausgabedatum

30 November 2018

# Anticuerpo monoclonal líquido de ratón Novocastra™ CD15 (MMA) Código De Producto: NCL-L-CD15-605

## Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-CD15-605 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de la proteína CD15 humana. 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

MMA.

## Inmunógeno

Ratones BALB/c a los que se les inyectó la estirpe celular histiocítica U937.

## Especificidad

Antígeno CD15 humano.

## Composición Del Reactivo

NCL-L-CD15-605 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

## Clase de Ig

IgM.

## Concentración Total De Proteína

Total Protein

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

## Concentración De Anticuerpo

No procede.

## Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

**Recuperación de epítomos termoinducida (HIER):** Siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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

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

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

## Almacenamiento Y Estabilidad

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 Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

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

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica. Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

### **Control De Calidad**

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

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

### **Control Tisular Positivo**

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

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

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

El tejido de control positivo recomendado es riñón.

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 de pacientes teñidas con NCL-L-CD15-605 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

### **Resultados esperados**

#### Tejidos normales

El clon MMA detectó la proteína CD15 en la membrana celular y en el citoplasma de células epiteliales y granulocitos de diversos tejidos evaluados. También se observó tinción en neuropilo del cerebro y el cerebelo, en células de Leydig de los testículos, en células mieloides de la médula ósea y en corpúsculos de Hassall del timo. (Cifra total de casos normales evaluados = 121).

#### Anormal del tejido

El clon MMA tiñó 38/46 tumores malignos hematológicos (incluidos 38/44 linfomas de Hodgkin, 0/1 linfomas macrocíticos anaplásicos y 0/1 linfoma no Hodgkin de linfocitos B). El clon MMA también tiñó 8/9 tumores intestinales, 4/5 tumores tiroideos, 4/5 tumores metastásicos, 4/4 tumores pulmonares, 3/3 adenocarcinomas gástricos, 3/3 tumores mamarios, 2/4 carcinomas hepatocelulares, 2/3 tumores ováricos, 2/3 carcinomas escamosos esofágicos, 2/2 carcinomas de células claras de riñón, 2/2 adenocarcinomas prostáticos, 2/2 carcinomas de células transicionales de la vejiga, 2/2 tumores de las glándulas salivales, 1/2 tumores de la glándula suprarrenal, 1/2 adenocarcinomas endometriales, 1/1 adenocarcinoma pancreático, 1/1 adenocarcinoma de cabeza y cuello y 1/1 carcinoma escamoso de la lengua. No se detectó tinción en diversos tejidos anormales adicionales evaluados, incluidos tumores cerebrales (0/4), tumores óseos (0/2), seminomas (0/2), tumores cervicales (0/2) y un melanoma (0/1) (cifra total de casos anormales evaluados = 111).

**NCL-L-CD15-605 está recomendado para la detección de proteína CD15 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. 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. Translational Oncology. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. The American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? Haematologica. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. The American Journal of Surgical Pathology. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. The American Journal of Surgical Pathology. 2003; 27(12):1513-1522.

## Correcciones A La Publicación Anterior

No corresponde

## Fecha De Publicación

30 de noviembre de 2018

# Anticorpo monoclonal líquido de rato Novocastra™ CD15 (MMA) Código Do Produto: NCL-L-CD15-605

## Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

O NCL-L-CD15-605 destina-se à identificação qualitativa, por microscopia ótica, da proteína CD15 humana em cortes em parafina. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

## Princípio Do Procedimento

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

## Clone

MMA.

## Imunogénio

Rato BALB/C inoculado com linha celular histiocítica U937.

## Especificidade

Antigénio CD15 humano.

## Composição Do Reagente

O NCL-L-CD15-605 é um sobrenadante líquido de cultura de tecidos contendo azida de sódio como conservante.

## Classe De Ig

IgM.

## Concentração Total De Proteína

Total Protein

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

## Concentração De Anticorpo

Não aplicável.

## Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

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

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

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

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

## Armazenamento E Estabilidade

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

## Preparação Das Amostras

O fixador recomendado é 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 sódica. Encontra-se disponível uma Ficha de Dados de Segurança do Material, mediante pedido ou através do site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

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

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

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

## Controlo Da Qualidade

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

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

## Controlo De Tecido Positivo

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

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

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

O tecido de controlo positivo recomendado é o rim.

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 tecido de controlo 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 de doentes coradas com NCL-L-CD15-605 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

## Resultados Previstos

### Tecidos normais

O MMA clone detetou a proteína CD15 na membrana celular e no citoplasma das células epiteliais e granulócitos numa variedade de tecidos avaliados. Também se observou coloração no neurópilo do cérebro e do cerebelo, nas células de Leydig dos testículos, nas células mielóides da medula óssea e nos corpúsculos de Hassall do timo. (Número total de casos normais avaliados = 121.)

### Tecidos anormal

O clone MMA corou 38/46 tumores malignos hematológicos (incluindo 38/44 linfomas de Hodgkin, 0/1 linfoma anaplástico de células grandes e 0/1 linfoma de linfócitos B não Hodgkin). O clone MMA também corou 8/9 tumores do intestino, 4/5 tumores da tiroide, 4/5 tumores metastáticos, 4/4 tumores pulmonares, 3/3 adenocarcinomas do estômago, 3/3 tumores mamários, 2/4 carcinomas hepatocelulares, 2/3 tumores ovários, 2/3 carcinomas de células escamosas do esófago, 2/2 carcinomas de células claras do rim, 2/2 adenocarcinomas prostáticos, 2/2 carcinomas de células de transição da bexiga, 2/2 tumores da glândula salivar, 1/2 tumores da glândula suprarrenal, 1/2 adenocarcinomas endometriais, 1/1 adenocarcinomas pancreáticos, 1/1 adenocarcinomas da cabeça e do pescoço e 1/1 carcinoma de células escamosas da língua. Não foi detetada coloração numa variedade de tecidos anormais adicionais avaliados, incluindo tumores cerebrais (0/4), tumores ósseos (0/2), seminomas (0/2), tumores cervicais (0/2) e um melanoma (0/1) (número total de casos anormais avaliados = 111).

**O NCL-L-CD15-605 (MMA) é recomendado para a deteção da proteína CD15 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. Translational Oncology. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. The American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? Haematologica. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. The American Journal of Surgical Pathology. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. The American Journal of Surgical Pathology. 2003; 27(12):1513-1522.

## Emendas Da Edição Anterior

Não aplicável

## Data De Emissão

30 de Novembro de 2018

# Novocastra™ flytande monoklonal antikropp från mus CD15 (MMA) Produktkod: NCL-L-CD15-605

## **Avsedd Användning**

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-CD15-605 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av humant CD15-protein 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**

MMA.

## **Immunogen**

BALB/C-möss injicerade med histiocytiska U937-celler.

## **Specificitet**

Humant CD15-antigen.

## **Reagensinnehåll**

NCL-L-CD15-605 är en flytande supernatant från vävnadskultur innehållande natriumazid som konserveringsmedel.

## **Ig-klass**

IgM.

## **Total Proteinkoncentration**

Total Protein

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

## **Antikropps-koncentration**

Ej tillämpligt.

## **Rekommendationer Vid Användning**

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

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

**Föreslagen spädning:** 1:100 i 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

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

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

## **Förvaring Och Stabilitet**

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

## **Preparation Av Prov**

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

## **Varningar Och Försiktighetsåtgärder**

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

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

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

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

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

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

## Kvalitetskontroll

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

Kontroller bör vara färiska 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>

Rekommenderad positiv kontrollvävnad är njure.

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

## Negativ Vävnadskontroll

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

Rekommenderad negativ kontrollvävnad är skelettmuskulatur.

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 fångar ofta specifikt.<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 specifik 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 resultatet med patientprover anses vara ogiltiga.

## Negativ Reagenskontroll

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

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-CD15-605 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all specifik 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

Klon MMA detekterade CD15-protein på cellmembranet och i cytoplasman hos epitelceller och granulocyter i flera av vävnaderna som utvärderades. Infärgning observerades även i neuropil i cerebrum och cerebellum, Leydigceller i testis, myeloidceller i benmärg och Hassalls kroppar i thymus. (Totalt antal utvärderade normalfall = 121).

### Onormal vävnad

Klon MMA färgade 38/46 hematologiska maligniteter (inklusive 38/44 Hodgkins lymfom, 0/1 anaplastiska storcellslymfom och 0/1 non-Hodgkins B-cellslymfom). Klon MMA färgade också 8/9 tarmtumörer, 4/5 sköldkörteltumörer, 4/5 metastaserande tumörer, 4/4 lungtumörer, 3/3 adenocarcinom i magsäcken, 3/3 brösttumörer, 2/4 hepatocellulära tumörer, 2/3 äggstockstumörer, 2/3 skvamösa cellcarcinom i matstrupen, 2/2 klarcellscarcinom i njuren, 2/2 prostataadenocarcinom, 2/2 övergångscellscarcinom i urinblåsan, 2/2 tumörer i salivkörteln, 1/2 tumörer i binjuren, 1/2 endometrieadenocarcinom, 1/1 pancreasadenocarcinom, 1/1 adenocarcinom i huvud och hals och 1/1 skvamöst cellcarcinom i tungan. Ingen färgning detekterades i flera ytterligare utvärderade onormala vävnader, inklusive hjärntumörer (0/4), skeletttumörer (0/2), seminom (0/2), cervixtumörer (0/2) och ett melanom (0/1) (Totalt antal utvärderade onormala fall = 111).

**NCL-L-CD15-605 rekommenderas för detektering av CD15-protein i normala och neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska färgstoffer.**

## 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>

Överflödigt 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. Öväntat 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 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## **Rättelser Av Tidigare Utgivning**

Inte tillämpligt

## **Utgivningsdatum**

30 november 2018

# Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Novocastra™ CD15 (MMA)

## Κωδικός είδους: NCL-L-CD15-605

### Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το NCL-L-CD15-605 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρώπινης πρωτεΐνης CD15 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 αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτογενές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτογενές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωματικό υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. 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 παθολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

### Κλώνος

MMA.

### Ανοσογόνο

Ποντίκια BALB/C στα οποία εγχύθηκε η κυτταρική σειρά ιστιοκυττάρων U937.

### Ειδικότητα

Ανθρώπινο αντιγόνο CD15.

### Σύνθεση Αντιδραστηρίου

Το NCL-L-CD15-605 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

### Τάξη Ig

IgM.

### Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

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

### Συγκέντρωση Αντισώματος

Δεν υφίσταται.

### Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε παρασκευάσματα παραφίνης.

**Ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης του Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Προτεινόμενη διάλυση:** 1:100 για 30 λεπτά σε θερμοκρασία 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους διαλύσεις εργασίας.

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

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

### Φύλαξη Και Σταθερότητα

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

### Παρασκευή Δείγματος

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

### Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

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

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

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



Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετάδοση λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις.<sup>1</sup> Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα αντιδραστήρια και 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 επεξεργασία των ιστών και τις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική μεταβλητότητα στα αποτελέσματα, καθιστώντας αναγκαία την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων επιπλέον των ακόλουθων διαδικασιών.

Οι μάρτυρες θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα νεκροψιακής/βιοψιακής/χειρουργικά δείγματα, τα οποία είναι μονιμοποιημένα σε φορμόλη, επεξεργασμένα και εγκλεισμένα σε κηρό παραφίνη, 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 για την ανίχνευση πολύ μικρών επιπέδων τυχόν αποδόμησης των αντιδραστηρίων.<sup>2</sup>

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι ο νεφρός.

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

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

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι ο σκελετικός μύες.

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 συνδεδεμένου 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 ψευδουπεροξειδάση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπεροξειδάση (κυτόχρωμα C) ή η ενδογενής βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο ανοσοχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμευσης των ενζύμων από ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστού ασθενών με χρωμογόνο υποστρώματός ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημασμένο πολυμερές) και ύπστρωμα-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 πρωτοπαγούς αντισώματος με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς για την αξιολόγηση μη ειδικής χρώσης και για να επιτρέπεται καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του αντιγόνου.

## Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τα δείγματα ασθενών που έχουν υποβληθεί σε χρώση με NCL-L-CD15-605 τελευταία. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στη πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί ιστοί

Ο κλώνος MMA ανίχνευσε την πρωτεΐνη CD15 στην κυτταρική μεμβράνη και στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων και των κοκκιοκυττάρων σε μια ποικιλία ιστών που αξιολογήθηκαν. Χρώση παρατηρήθηκε επίσης στο νευροτίλημα του εγκέφαλου και της παρεγκεφαλίδας, στα κύτταρα Leydig στους όρχεις, στα μυελοειδή κύτταρα στον μυελό των οστών και στα σωματίδια Hassall στον θύμο. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 121).

### Ανώμαλη ιστοί

Ο κλώνος MMA προκάλεσε χρώση σε 38/46 αιματολογικές κακοήθειες (στις οποίες συμπεριλαμβάνονταν 38/44 λεμφώματα Hodgkin, 0/1 αναπλαστικό μεγαλοκυτταρικό λέμφωμα και 0/1 μη Hodgkin λέμφωμα από Β κύτταρα). Ο κλώνος MMA προκάλεσε επίσης χρώση σε 8/9 όγκους του εντέρου, 4/5 όγκους του θυρεοειδούς, 4/5 μεταστατικούς όγκους, 4/4 όγκους των πνευμόνων, 3/3 αδενοκαρκινώματα του στομάχου, 3/3 όγκους του μαστού, 2/4 ηπατοκυτταρικά καρκινώματα, 2/3 όγκους των ωοθηκών, 2/3 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του οισοφάγου, 2/2 διαυκοκυτταρικά καρκινώματα του νεφρού, 2/2 αδενοκαρκινώματα του προστάτη, 2/2 καρκινώματα της ουροδόχου κύστης από το μεταβατικό επιθήλιο, 2/2 όγκους των σιελογόνων αδένων, 1/2 όγκους των επινεφριδίων, 1/2 αδενοκαρκινώματα του ενδομητρίου, 1/1 αδενοκαρκίνωμα του παγκρέατος, 1/1 αδενοκαρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου και 1/1 ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα της γλώσσας. Δεν ανιχνεύθηκε χρώση σε διάφορους πρόσθετους μη φυσιολογικούς ιστούς που αξιολογήθηκαν, συμπεριλαμβανομένων όγκων του εγκέφαλου (0/4), όγκων των οστών (0/2), σεμινωμάτων (0/2), όγκων του τραχήλου της μήτρας (0/2) και ενός μελανώματος (0/1) (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 111).

**Το NCL-L-CD15-605 συνιστάται για την ανίχνευση της πρωτεΐνης CD15 σε φυσιολογικό και νεοπλασματικό ιστό, 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, παθολογία 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 διακυβευθεί 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 αντισώματα που παρέχονται από την Leica Biosystems Newcastle Ltd προορίζονται για χρήση, όπως υποδεικνύεται, είτε σε κατεψυγμένες είτε σε εγκλεισμένες σε παραφίνη τομές, με ειδικές απαιτήσεις μονιμοποίησης. Ενδέχεται να παρουσιαστεί μη αναμενόμενη έκφραση αντιγόνου, ειδικά σε νεοπλασμάτα. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρωματισμένης τομής ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων μαρτύρων.

## Βιβλιογραφία - 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. 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Δεν εφαρμόζεται

## Ημερομηνία Έκδοσης

30 Νοεμβρίου 2018

# Novocastra™ flydende murint monoklonalt antistof CD15 (MMA)

## Produktkode: NCL-L-CD15-605

### Tilsigtede Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-CD15-605 er beregnet til brug til kvalitativ identifikation med lysmikroskopi af humant CD15 protein i paraffinsnit. 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

MMA.

### Immunogen

BALB/C mus injiceret med U937 histiocytisk cellelinje.

### Specificitet

Humant CD15-antigen.

### Reagenssammensætning

NCL-L-CD15-605 er en flydende vævskultursupernatant, der indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

### Ig-klasse

IgM.

### Totalproteinkoncentration Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

### Antistofkoncentration

Ikke relevant.

### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Varmeinduceret epitopdemaskering (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Følg venligst brugsanvisningen til Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Forslået fortynding:** 1:100 i 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjer er vejledende, og brugeren bør selv bestemme egne optimale brugsopløsninger.

**Visualisering:** Følg venligst vejledningen i Novolink™ Polymer Detection Systems. Yderligere produktinformation og support fås ved henvendelse til lokal forhandler eller Leica Biosystems regionskontor - samt på vores hjemmeside: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Dette antistofs funktion bør valideres, når det anvendes med andre manuelle farvningssystemer eller automatiserede platforme.

### Opbevaring Og Holdbarhed

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

### Prøveklargøring

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

### Advarsler Og Forholdsregler

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

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

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

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

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

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

## Kvalitetskontrol

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

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

## Positiv Vævskontrol

Anvendes til påvisning af, at vævet er fremstillet korrekt, og at der er anvendt korrekte 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 væv til positiv kontrol er nyre.

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.

Anbefalet væv til negativ kontrol 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 muligvis bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet.

## Patientvæv

Undersøg patientpræparater farvet med NCL-L-CD15-605 sidst. Intensiteten af positiv farvning bør vurderes i sammenhæng med eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist. Ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Om nødvendigt anvendes et panel af antistoffer til identifikation af falske negative reaktioner.

## Forventede Resultater

### Normalt væv

Klon MMA påviste CD15-proteinet på cellemembranen og i cytoplasmaet i epitelceller og granulocytter i en række evaluerede væv. Der sås endvidere farvning i neuropil i cerebrum og cerebellum, Leydig-celler i testis, myeloidceller i knoglemarv og Hassall blodlegemer i thymus. (Samlet antal normale tilfælde, der blev evalueret = 121).

### Abnormt væv

Klon MMA påviste 38/46 hæmatologiske maligniteter (inklusive 38/44 Hodgkins lymfomer, 0/1 anaplastiske storcellede lymfomer og 0/1 non-Hodgkins B-cellelymfomer). Klon også MMA-farvede 8/9 tumorer i tarmen, 4/5 tumorer i thyroidea, 4/5 metastatiske tumorer, 4/4 lungetumorer, 3/3 adenokarcinomer i maven, 3/3 brysttumorer, 2/4 hepatocellulære carcinomer, 2/3 ovarietumorer, 2/3 pladecellekarcinomer i øsophagus, 2/2 clear-cellekarcinomer i nyren, 2/2 adenokarcinomer i prostata, 2/2 transitionalcellekarcinomer i blæren, 2/2 tumorer i spytkirtlen, 1/2 tumorer i binyren, 1/2 adenokarcinomer i endometriet, 1/1 adenokarcinomer i pancreas, 1/1 adenokarcinomer i hoved og nakke og 1/1 pladecellekarcinom på tungen. Der blev ikke registreret farvning i en række yderligere evaluerede, abnorme væv, inklusive hjernetumorer (0/4), knogletumorer (0/2), seminomer (0/2), tumorer på cervix (0/2) og et melanom (0/1) (samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 111).

**NCL-L-CD15-605 anbefales til påvisning af CD15-protein i normale og neoplastiske væv som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.**

## Generelle Begrænsninger

Immunhistokemi er en diagnostisk proces 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 antigenekspression, 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## Rettelser Til Tidligere Udgave

Ikke relevant

## Udgivelsesdato

30 november 2018

# Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muisantilichaam CD15 (MMA)

**Productcode: NCL-L-CD15-605**

## Beoogd Gebruik

*Voor gebruik bij in-vitro-diagnostiek.*

NCL-L-CD15-605 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie met behulp van lichtmicroscopie van CD15-eiwit in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

## Beginsel van de Procedure

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

## Kloon

MMA.

## Immunogeen

BALB/C-muizen die zijn geïnjecteerd met U937-histiocytenlijn.

## Specificiteit

Humaan CD15-antigeen.

## Reagentiasamenstelling

NCL-L-CD15-605 is een vloeibaar supernatant van weefselkweek dat natriumazide bevat als conserveringsmiddel.

## Ig-klasse

IgM.

## Totale Proteïneconcentratie

Total Protein

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

## Antilichaamconcentratie

Niet van toepassing.

## Aanbevelingen over het Gebruik

Immunochemisch op paraffine coupes.

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

**Vorgestelde verdunning:** 1:100 gedurende 30 minuten bij 25 °C. Dit wordt gezien als een richtlijn en gebruikers dienen hun eigen optimale werkverdunningen te bepalen.

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

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

## Opslag en Stabiliteit

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

## Vorbereiding van Monsters

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

## Waarschuwingen en Voorzorgsmaatregelen

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

Deze reagens bevat natriumazide. Een materiaalveiligheidsblad is op verzoek verkrijgbaar bij [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Raadpleeg de richtlijnen van de lokale of nationale overheid voor het afdanken van potentieel giftige componenten.

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

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

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

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

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

## Kwaliteitscontrole

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

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

## Positieve Weefselcontrole

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

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

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

Aanbevolen positieve weefselcontrole is nier.

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

## Negatieve Weefselcontrole

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

Aanbevolen negatieve weefselcontrole is skeletspier.

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

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

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

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

## Negatieve Reagenscontrole

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

## Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-CD15-605 zijn gekleurd het laatst. De positieve kleuringsintensiteit moet worden geëvalueerd binnen de context van iedere niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Net zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent dus niet dat het antigeen afwezig was in de geanalyseerde cellen/het geanalyseerde weefsel. Gebruik een panel van antilichamen om de verkeerd-negatieve reacties te identificeren.

## Verwachte Resultaten

### Normale weefsels

Kloon MMA detecteerde het CD15-eiwit op het celmembraan en in het cytoplasma van epitheelcellen en granulocyten in verscheidene geëvalueerde weefsels. Kleuring werd ook waargenomen in het neuropilema van het cerebrum en cerebellum, in Leydig-cellen in de testis, in myeloïde cellen in beenmerg en in Hassall-lichaampjes in de thymus. (Totaal aantal normale gevallen dat werd geëvalueerd = 121.)

### Abnormale weefsels

Kloon MMA kleurde 38/46 hematologische maligniteiten (waaronder 38/44 Hodgkinlymfomen, 0/1 anaplastische grootcellige lymfomen en 0/1 non-Hodgkin-B-cellymfoom). Kloon MMA kleurde ook 8/9 darmtumoren, 4/5 schildkliertumoren, 4/5 gemetastaseerde tumoren, 4/4 longtumoren, 3/3 maagadenocarcinomen, 3/3 borsttumoren, 2/4 hepatocellulaire carcinomen, 2/3 eierstoktumoren, 2/3 slokdarm-plaveiselcelcarcinomen, 2/2 'clear cell'-niercarcinomen, 2/2 prostaat-adenocarcinomen, 2/2 blaas-overgangselcarcinomen, 2/2 speekselkliertumoren, 1/2 bijnier tumoren, 1/2 endometrium-adenocarcinomen, 1/1 pancreas-adenocarcinoom, 1/1 hoofd- en halsadenocarcinoom en 1/1 plaveiselcelcarcinoom van de tong. Er werd geen kleuring waargenomen in verscheidene additionele abnormale weefsels die werden geëvalueerd, waaronder hersentumoren (0/4), bottumoren (0/2), seminomen (0/2), baarmoederhalstumoren (0/2) en een melanoom (0/1) (totaal aantal afwijkende gevallen dat werd geëvalueerd = 111).

**NCL-L-CD15-605 wordt aanbevolen voor het detecteren van CD15-eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.**

## Algemene Bependingen

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

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

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

## Algemene Literatuurlijst

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## Aanpassingen ten opzichte van Vorige Editie

Niet van toepassing

## Publicatiedatum

30 november 2018



# Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff CD15 (MMA)

## Produktkode: NCL-L-CD15-605

### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-CD15-605 skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopi av humant CD15-protein i parafinsnitt. Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

### Prosedyreprinsipp

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

### Klon

MMA.

### Immunogen

BALB/C-mus injisert med U937 histiocytisk cellelinje.

### Spesifisitet

Humant CD15-antigen.

### Reagenssammensetning

NCL-L-CD15-605 er en flytende vevskultursupernatant med natriumazid som et konserveringsmiddel.

### Ig-klasse

IgM.

### Totalproteinkonsentrasjon

Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk totalproteinkonsentrasjon.

### Antistoffkonsentrasjon

Ikke aktuelt.

### Anbefalinger for Bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

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

**Foreslått fortykning:** 1:100 i 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjene er veiledende, og brukeren bør selv bestemme egne optimale bruksfortynninger.

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

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

### Oppbevaring og Stabilitet

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

### Klargjøring av Prøver

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralbufret formalin for parafinlagrede vevssnitt.

### Advarsler og Forholdsregler

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

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

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

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

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

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

Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifisert farging. Inkubasjonstider eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

### Kvalitetskontroll

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

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

### Positiv Vevskontroll

Brukes for å påvise korrekt vevspreparering og fargeteknikker.

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

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

Anbefalt positivt kontrollvev er nyre.

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

### Negativ Vevskontroll

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

Anbefalt negativt kontrollvev er skjelett muskulatur.

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

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

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

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

### Negativ reagenskontroll

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

### Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-CD15-605 sist. Intensiteten av positiv farging bør vurderes i sammenheng med eventuell uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med alle immunhistokjemiske tester, betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserte cellene/vevet. Om nødvendig kan man bruke et panel av antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

### Forventede Resultater

#### Normalt Vev

Klon MMA detekterte CD15-proteinet på cellemembranen og i cytoplasmaet til epitelceller og granulocytter i en rekke vev som ble evaluert. Farging ble også observert i nevropil i storhjernen og lillehjernen, leydigceller i testiklene, myeloidceller i benmargen og Hassalls legemer i thymus. (Totalt antall normale tilfeller evaluert = 121.)

#### Abnormalt Vev

Klon MMA farget 38/46 hematologiske ondartetheter (inkludert 38/44 Hodgkins lymfomer, 0/1 anaplastiske storcellymfomer og 0/1 ikke-Hodgkins B-celleylfom). Klon MMA farget også 8/9 tarmtumorer, 4/5 skjoldbruskkjerteltumorer, 4/5 metastatiske tumorer, 4/4 lungetumorer, 3/3 adenokarsinomer i magen, 3/3 brysttumorer, 2/4 hepatocellulære karsinomer, 2/3 eggstokktumorer, 2/3 platepittelekarinomer i spiserøret, 2/2 klarcellekarinomer i nyren, 2/2 adenokarsinomer i prostata, 2/2 overgangscellekarinomer i blæren, 2/2 spyttkjerteltumorer, 1/2 binyretumorer, 1/2 adenokarsinomer i endometrium, 1/1 adenokarsinom i bukspyttkjertel, 1/1 adenokarsinom i hode og hals og 1/1 platepittelekarinom i tungen. Ingen farging ble detektert i en rekke ytterligere normale vev som ble evaluert, inkludert hjernetumorer (0/4), bentumorer (0/2), seminomer (0/2), livmorhals tumorer (0/2) og et melanom (0/1) (totalt antall unormale tilfeller evaluert = 111).

**NCL-L-CD15-605 anbefales for deteksjon av CD15-protein i normale og neoplastiske vev, og som tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.**

### Generelle Begrensninger

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

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

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

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

### **Bibliografi – Generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F, Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

### **Endringer i forhold til Forrige Utgave**

Ikke relevant

### **Utgivelsesdato**

30 november 2018

# Novocastra™ Likit Fare Monoklonal Antikoru CD15 (MMA)

## Ürün Kodu: NCL-L-CD15-605

### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanımı için.

NCL-L-CD15-605, parafin kesitlerinde insan CD15 proteininin ışık mikroskopisi ile nitel belirlenmesi için amaçlanmıştır. Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

### Prosedür Prensipleri

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

### Clone

MMA.

### İmmünojen

U937 histiyositik hücre silsilesi enjekte edilmiş BALB/C fareleri.

### Spesifite

İnsan CD15 antijeni.

### Reagent Kompozisyonu

NCL-L-CD15-605, prezervatif olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

### Ig Sınıfı

IgM.

### Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özel toplam protein konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

### Antikor Konsantrasyonu

Uygulanamaz

### Kullanım Tavsiyeleri

Parafin seksiyonlarında immünohistokimya.

**Isı Etkisiyle Epitop Geri Kazanımı (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Lütfen, Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 için kullanma talimatını izleyin.

**Önerilen dilüsyon:** 25 °C'de 30 dakika için 1:100. Bu bir kılavuz olarak verilmiştir; kullanıcılar, kendilerine özel optimal çalışma dilüsyonlarını belirlemelidirler.

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

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

### Saklama ve Dayanıklılık

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

### Numune Hazırlığı

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

### Uyarılar ve Önlemler

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

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

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

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

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

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

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

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

## Kalite Kontrol

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

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

## Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve düzgün boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

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

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

Önerilen pozitif kontrol dokusu böbrektir.

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

## Negatif Doku Kontrolü

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

Önerilen negatif kontrol dokusu iskelet kasıdır.

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

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

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

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

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

## Negatif Reagent Kontrolü

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

## Hasta Dokusu

NCL-L-CD15-605 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama intensitesi, negatif reagent kontrolünün herhangi bir nonspesifik arka plan boyamasının kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal test ile negatif bir sonuç, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir; antijenin test edilen hücrelerde/dokuda mevcut olmadığı anlamına gelmez. Gerekliyse yanlış negatif reaksiyonları belirlemek için bir antikor paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Klon MMA, değerlendirilen çeşitli dokularda CD15 proteinini epitelial hücreler ve granülositlerin sitoplazmasında ve hücre membranında saptamıştır. Boyanma ayrıca serebrum ve serebellumda nöropilde, testiste Leydig hücrelerinde, kemik iliğinde miyeloidde ve timusta Hassall cisimciklerinde de gözlenmiştir. (Değerlendirilen toplam normal olgu sayısı = 121).

### Abnormal Dokular

Klon MMA, 38/46 hematolojik malignite (38/44 Hodgkin lenfoma, 0/1 anaplastik büyük hücreli lenfoma ve 0/1 non-Hodgkin B hücreli lenfomayı dahil) boyadı. Klon MMA ayrıca 8/9 barsak tümörü, 4/5 tiroid tümörü, 4/5 metastatik tümör, 4/4 akciğer tümörü, 3/3 mide adenokarsinomu, 3/3 meme tümörü, 2/4 hepatoselüler karsinom, 2/3 over tümörü, 2/3 skuamöz hücreli özofagus karsinomu, 2/2 böbrek berrak hücreli karsinomu, 2/2 prostat adenokarsinomu, 2/2 transizyonel hücreli mesane karsinomu, 2/2 tükrük bezi tümörü, 1/2 adrenal bez tümörü, 1/2 endometriyal adenokarsinom, 1/1 pankreas adenokarsinomu, 1/1 baş ve boyun adenokarsinomu ve 1/1 skuamöz hücreli dil karsinomuyla boyandı. Beyin tümörleri (0/4), kemik tümörleri (0/2), seminomlar (0/2), servikal tümörler (0/2) ve bir melanomayı (0/1) (değerlendirilen anormal olgu sayılarının toplamı = 111) içeren çeşitli ek anormal dokuların değerlendirilmesinde boyanma saptanmadı.

**NCL-L-CD15-605, immünojenik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak normal ve neoplastik dokularda CD15 proteinin saptanması için önerilir.**

## Genel Sınırlamalar

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

Aşırı veya incomplek karışık boya, sonuçların doğru yorumlanmasına engel olabilir.

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

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

## Kaynakça - Genel

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. Translational Oncology. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. The American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? Haematologica. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. The American Journal of Surgical Pathology. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. The American Journal of Surgical Pathology. 2003; 27(12):1513-1522.

## Önceki Baskıya Göre Değişiklikler

Geçerli Değildir

## Yayım tarihi

30 Kasım 2018

# Моноклонално антитяло Novocastra™ от мишка в течно състояние CD15 (MMA)

## Код на продукта: NCL-L-CD15-605

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

NCL-L-CD15-605 е предназначен за качествено определяне със светлинна микроскопия на човешки CD15 протеин в парафинови срези. Клиничната интерпретация на което и да е оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

### Принцип на процедурата

Техниките на имунохистохимично (ИХХ) 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 пробата и да се постави покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с използване на светлинна микроскопия и са в помощ при диференциалната диагностика на патолофизиологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

### Клон

MMA.

### Имуноген

Мишки BALB/C, инжектирани с U937 хистиоцитна клетъчна линия.

### Специфичност

Човешки CD15 антиген.

### Състав на реагента

NCL-L-CD15-605 е супернатантна течност от тъканна култура, съдържаща натриев азид като консервант.

### Имуноглобулинов клас

IgM.

### Обща концентрация на протеин

Total Protein

Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата обща концентрация на протеин.

### Концентрация на антитела

Не е приложимо.

### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

**Топлинно индуцирано възстановяване на епитопа (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Моля, спазвайте инструкциите за употреба, приложени към опаковката на Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Предложение за разреждане:** 1:100 за 30 минути при 25 °C. Това е дадено като указание, а потребителите трябва сами да определят техни собствени оптимални работни разреждания.

**Визуализация:** Моля, спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novolink™ Polymer Detection Systems.

За допълнителна информация за продукта или помощ, свържете се с Вашия локален дистрибутор или местния офис на Leica Biosystems, или, алтернативно, посетете уебсайта 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

Да се съхранява при 2–8 °C. Да не се замразява. Да се постави обратно при 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 пробите

Препоръчителният фиксатор е неутрален буферизиран формалин 10% за тъканни срези, включени 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. Лист с данни за безопасност на материала може да се получи при поискване или е на разположение от [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Направете справка във федералните, държавните или местните наредби относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.

Всички проби, преди и след фиксиране, 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 проби. В случай че реагенти или проби влязат в контакт с чувствителни зони, направете промивка с изобилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

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

Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да причинят грешни резултати. Всякакви такива промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

### Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да причинят значителна вариабилност в резултатите, което налага редовно извършване на вътрешни контроли в допълнение към следните процедури.

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

### Положителна тъканна контрола

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

Една положителна тъканна контрола трябва да бъде включена за всяка комбинация от тест-условия при всяка серия проби за оцветяване.

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

Препоръчителната тъкан за положителна контрола е бърбек.

Ако положителната тъканна контрола не показва положително оцветяване, резултатите от пробите, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

### Отрицателна тъканна контрола

Трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на таргетния антиген от първичното анти тяло.

Препоръчителната тъкан за отрицателна контрола е скелетен мускул.

Алтернативно, разнороднообразие от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъканини срези, често предлага места за отрицателна 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 прекомерно фиксирани във формалин тъкани. Използвайте интактни клетки за интерпретация на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенерираните клетки често се оцветяват неспецифично.<sup>3</sup> Може да се видят фалшиво положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата. Те може да са причинени и от ендогенни ензими като псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване.

За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имунна реактивност, ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или с ензимни комплекси (авидин-биотин, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола, резултатите от пробите на пациентите трябва да се считат за невалидни.

### Отрицателна контрола на реагента

Използвайте неспецифична отрицателна контрола на реагента, вместо първичното анти тяло, със срез от всяка проба на пациента, за да се направи оценка на неспецифичното оцветяване и да се даде по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на мястото на антигена.

### Тъкан от пациента

Изследвайте проби на пациенти, оцветени последно с NCL-L-CD15-605. Наситеността на положителното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на фона на неспецифично оцветяване на отрицателната контрола на реагента, ако има такава. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираните клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от анти тела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

### Очаквани резултати

#### Нормални тъкани

С клон MMA е открит CD15 протеин върху клетъчната мембрана и в цитоплазмата на епителни клетки и гранулоцити в множество оценени тъкани. Оцветяване е наблюдавано и в неутрофил на церебрума и сербелума, Лайдигови клетки в тестис, миелоидни клетки в костен мозък и Хасалени телца в тимуса. (Общ брой на оценените нормални случаи = 121).

#### Абнормни тъкани

С клон MMA са оцветени 38/44 хематологични злокачествени образувания (включващи 38/44 Хочкинови лимфома, 0/1 анапластичен едроклетъчен лимфом и 0/1 нехочкинов В-клетъчен лимфом). С клон MMA са оцветени и 8/9 чревни тумора, 4/5 тироидни тумора, 4/5 метастатични тумора, 4/4 белодробни тумора, 3/3 аденокарцинома на стомаха, 3/3 тумора на гърдата, 2/4 хепатоцелуларни карцинома, 2/3 овариални тумора, 2/3 сквамозноклетъчни карцинома на хранопровода, 2/2 светлоклетъчни карцинома на бъбрека, 2/2 простатни аденокарцинома, 2/2 преходноклетъчни карцинома на пикочния мехур, 2/2 тумора на слюнчената жлеза, 1/2 тумора на надбъбречната жлеза, 1/2 ендометриални аденокарцинома, 1/1 панкреатичен карцином, 1/1 аденокарцином на главата и шията и 1/1 сквамозноклетъчен карцином на езика. Не се открива оцветяване при още редица оценени абнормни тъкани, включващи мозъчни тумори (0/4), костни тумори (0/2), семиноми (0/2), цервикални тумори (0/2) и един меланом (0/1) (Общ брой на оценените абнормни случаи = 111).

**NCL-L-CD15-605 се препоръчва за откриване на CD15 протеин в нормални и неопластични тъкани, като допълнение към конвенционалната хистопатология, с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.**



## Общи ограничения

Имунохистохимията е многостепенен диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение в избор на подходящите реагенти; избор на тъкани, фиксация и обработка; подготовка на ИХХ слайд; и интерпретация на резултатите от оцветяването.

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилното фиксиране, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, сръзване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини артефакти, блокиране на антителата или фалшиво отрицателни резултати. Несъвместимите резултати може да са причинени от отклонения във фиксирането и методите на включване в парафина, или от вродени аномалии в тъканта.<sup>4</sup>

Прекаленото или непълно контраоцветяване може да компрометира правилната интерпретация на резултатите.

Клиничната интерпретация на което и да е 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 за употреба, както е указано, върху замразени или включени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Може да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценката на подходящи контроли.

## Библиография - основна

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## Изменения на предишно издание

Неприложимо

## Дата на издаване

30 Ноември 2018

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest CD15 (MMA)

**Termékkód: NCL-L-CD15-605**

## Tervezett felhasználás

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-CD15-605 a humán CD15 fehérje fénymikroszkóppal végzett minőségi azonosítására szolgál paraffinmetszetekben. Minden megfestésnek vagy a megfestés bármely hiányának a klinikai értelmezését a megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai kórelőzménye, valamint az egyéb, képzett patológus által végzett diagnosztikai vizsgálatok kontextusában kell kiértékelni.

## Az eljárás alapelve

Az immunhisztokémiai (IHC) megfestési technikák – közbeiktatott mosási lépések mellett – az antigén ellen termelődő specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest ellen termelődő másodlagos antitest és az egy kromogén szubsztráttal rendelkező enzimmolekulák egymás után következő alkalmazásán keresztül teszik lehetővé az antigének képi megjelenítését. A kromogén enzimaktiválása látható reakcióterméket eredményez az antigén helyén. Utána a minta kontrasztfesthető és fedőlemezzel látható el. Az eredményeket fénymikroszkóp segítségével lehet értelmezni; ezek az eredmények segítenek a patofiziológias folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok lehet, hogy egy konkrét antigénhez kapcsolhatók, de lehet, hogy nem.

## Klón

MMA.

## Immunogén

BALB/C egerek, melyekbe U937 histiocytás sejtvonalat fecskendeztek.

## Specifitás

Humán CD15 antigén.

## Reagens összetétele

Az NCL-L-CD15-605 egy tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

## Ig-osztály

IgM.

## Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A tétel specifikus összfehérje-koncentrációját illetően lásd a fiola címkéjét.

## Antitest-koncentráció

Nem alkalmazható.

## Javaslatok a felhasználással kapcsolatban

Immunhisztokémia paraffinmetszeteken.

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

**Javasolt feloldás:** 1:100 30 percen át, 25 °C-on. Mindez csak útmutatóul szolgál, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkaadataikat.

**Megjelenítés:** Kövesse a Novolink™ Polymer Detection Systems rendszerekben történő használatra vonatkozó utasításokat. Ha további termékinformációkra vagy támogatásra van szüksége, forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems webhelyét a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

Ennek az antitestnek a teljesíthetőségét validálni kell, amikor más festési rendszerekkel vagy automatizált platformokkal használják.

## Tárolás és stabilitás

2–8 °C-os hőmérsékleten tárolandó. Tilos fagyasztani. Felhasználás után azonnal tegye vissza olyan helyre, ahol a hőmérséklet 2–8 °C. A fiola címkéjén feltüntetett lejárati dátumot követően felhasználása tilos. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználóknak ellenőriznie kell.

## Minta előkészítése

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

## Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejtkultúra felülúszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor ésszerű körültekintéssel kell eljárni.

Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági lap igényelhető, vagy a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) webhelyen rendelkezésre áll.

Minden potenciálisan toxikus összetevőnek az ártalmatlanításával kapcsolatban tanulmányozza a szövetségi, állami vagy helyi rendelkezéseket.

A mintákat fixálás előtt és után, valamint az azoknak kitett minden anyagot úgy kell kezelni, mintha fertőzőképes volna, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani.\* Soha ne pipettázza szájjal a reagenst, és kerülendő a bőr, valamint a nyálkahártyák érintkezése a reagensttel és mintákkal. Ha a reagenst vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le. Forduljon orvoshoz.

Minimálisra kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyezettségét, különben megnövekedhet a nem specifikus megfestés.

A megadottaktól eltérő inkubációs idők, illetve hőmérsékletek hibás eredményekre vezethetnek. Minden ilyen változást a felhasználónak kell validálnia.

## Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában a szövetfeldolgozás és a műszaki eljárások terén jelentkező különbségek jelentős eltérést idézhetnek elő az eredmények területén, ami – a következő eljárásokon túlmenően – a házon belüli ellenőrzések rendszeres végrehajtását teszi szükségessé.

A kontrollok legyenek friss boncolási/biopsziás/sebészeti minták, amelyeket – amint lehet – ugyanúgy formalinnal fixáltak, dolgoztak fel, illetve ágyaztak paraffinvaszba, mint a betegmintá(ka)t.

## Pozitív szövetkontroll

Ezt a megfelelően preparált szövetek és a megfelelő megfestési technikák jelzésére használják.

Mindegyik vizsgálati feltételekrendszer esetében egy pozitív szövetkontrollt kell alkalmazni minden megfestési sorozat során.

A gyengén pozitív megfestésű szövet alkalmasabb egyrészt az optimális minőség-ellenőrzés, másrészt az alacsonyabb szinten történő reagensbomlás észlelése szempontjából, mint az erősebben pozitív megfestésű szövet.<sup>2</sup>

A javasolt pozitív kontrollszövet a vese.

Ha a pozitív szövetkontroll nem mutat pozitív megfestést, a vizsgálati minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív szövetkontroll

Ezt a pozitív szövetkontroll után kell megvizsgálni, azért, hogy a céltantígen az elsődleges antitest segítségével történő címkézésének a specifikitását ellenőrizni lehessen.

A javasolt negatív kontrollszövet a vázizom.

Illetve, a legtöbb szövetmetszetben jelen lévő különböző sejttípusok változatossága gyakran kínál negatív kontrollhelyeket, de ezt a felhasználónak kell ellenőriznie.

A nem specifikus megfestés, ha van ilyen, rendszerint diffúz megjelenésű. Kötőszövet szárványos megfestése is megfigyelhető a formalinnal túlzottan fixált szövetekből származó metszeteknél. A megfestési eredmények értelmezésére érintetlen sejteket használjon. Az elhalt vagy degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> Hamis pozitív eredmények jelentkezhetnek a fehérjéknek vagy a szubsztrát reakciótermékeinek a nem immunológiai kötődése miatt. Okozhatják ezt olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (eritrociták), endogén peroxidáz (citokróm C), illetve endogén biotin (pl. máj, mell, agy, vese), az alkalmazott immunmegfestés típusától függően. Az endogén enzim aktivitásának vagy a specifikus immunreaktivitásból származó enzimek nem specifikus kötődésének a megkülönböztetésére további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát kromogénnel vagy enzimkomplexekkel (avidin-biotin, streptavidin, címkézett polimer), illetve szubsztrát kromogénnel. Ha a negatív szövetkontroll specifikus megfestést mutat, a betegmintáknál jelentkező eredményeket érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív reagenskontroll

Az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt alkalmazjon mindegyik betegminta metszeténél, hogy a nem specifikus megfestést kiértékelhesse, és hogy lehetővé váljon a specifikus megfestés jobb értelmezése az antigén helyén.

## Betegszövet

Az NCL-L-CD15-605-tel festett betegmintákat utolsóként vizsgálja meg. A pozitív megfestésintenzitást a negatív reagenskontroll bármely nem specifikus háttérmegfestésének a kontextusában kell kiértékelni. Ugyanúgy, mint bármely 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. Ha szükséges, a hamis negatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

## Várható eredmények

### Normális szövetek

Az MMA klón észlelte a CD15 fehérjét az epithelialis sejtek és granulocyták sejtmembránján és citoplazmájában sokféle értékelt szövetben. Megfestést figyeltek ezenkívül meg a nagyagy és a kisagy neuronpajzsaiban, a herék Leydig-sejtjeiben, a csontvelő myeloid sejtjeiben és a csecsemőmirigy Hassall-testeiben. (Az értékelt normális esetek összesített száma = 121.)

### Abnormális szövetek

Az MMA klón festési eredményei: 38/46 rosszindulatú haematológiai elváltozás (közte 38/44 Hodgkin-limfóma, 0/1 anaplasticus nagy sejtis limfóma és 0/1 nem Hodgkin B-sejtis limfóma). Az MMA klón megfestett ezenkívül 8/9 bélumort, 4/5 pajzsmirigyumort, 4/5 metasztatikus tumort, 4/4 tüdőumort, 3/3 gyomor-adenocarcinomat, 3/3 mellumort, 2/4 hepatocellularis carcinomat, 2/3 petefészekumort, 2/3 pikkelysejtes nyelőcső-carcinomat, 2/2 világos sejtis vesecarcinomat, 2/2 prosztata-adenocarcinomat, 2/2 átmeneti sejtis hólyagcarcinomat, 2/2 nyálmirigyumort, 1/2 mellékveseumort, 1/2 endometriális adenocarcinomat, 1/1 hasnyálmirigy-adenocarcinomat, 1/1 fejtumor adenocarcinomat és 1/1 pikkelysejtes nyelvarcinomat. Semmilyen megfestést nem észleltek sokféle további értékelt abnormális szövetben, beleértve az agytumort (0/4), csontumort (0/2), seminomat (0/2), méhnyaktumort (0/2) és melanomat (0/1). (Az értékelt abnormális esetek összesített száma = 111.)

**Az NCL-L-CD15-605 a CD15 fehérje detektálására ajánlott normális és neoplasziás szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos hisztopatológia kiegészítéseként.**

## Általános korlátozások

Az immunhisztokémia egy többlépcsős diagnosztikai eljárás, amely a következőkből áll: szakképzés a megfelelő reagensek kiválasztása terén; szövetválasztás, -fixálás és feldolgozás; az IHC-tárgylemez előkészítése; és a megfestési eredmények értelmezése.

A szövetmegfestés függ a szövet kezelésétől és feldolgozásától a megfestés előtt. A nem megfelelő fixálás, fagyasztás, olvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszetkészítés vagy a más szövetekkel, illetve folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve hamis negatív eredményeket produkálhat. A közvetlenül eredmények a fixálási vagy beágyazási módszerek tekintetében jelentkező eltéréseknek, illetve a szöveten belül jelentkező eredendő rendellenességeknek tudhatók be.<sup>4</sup>

A túlzott vagy hiányos kontrasztmegfestés az eredmények megfelelő értelmezését ronthatja.

Minden megfestésnek vagy a megfestés bármely hiányának a klinikai értelmezését a megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai kórelőzménye, valamint az egyéb, képzett patológus által végzett diagnosztikai vizsgálatok kontextusában kell kiértékelni.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd-től származó antitestek, a jelzettek szerint – specifikus fixálási követelmények mellett – a fagyasztott vagy paraffinba ágyazott metszeteken történő felhasználásra szolgálnak. Váratlan antigén-kifejeződés is előfordulhat, különösen neoplazmák esetében. Bármely festett szövetszövet klinikai értelmezésének ki kell terjednie a morfológiai elemzésre és a megfelelő kontrollok értékelésére is.

## **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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## **Előző kiadás módosításai**

Nem alkalmazható

## **Kiadás időpontja**

30 november 2018

# Anticorp monoclonal lichid de șoarece Novocastra™ CD15 (MMA)

## Cod produs: NCL-L-CD15-605

### Domeniu de utilizare

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-CD15-605 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei umane CD15 în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice utilizând proceduri de control adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de un patolog calificat.

### Principiul de procedură

Tehnicele de colorație 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. Proba poate fi apoi contracolorată și acoperită. 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

MMA.

### Imunogen

Șoarece BALB/C injectat cu linia celulară cu histiocite U937.

### Specificitate

Antigen uman CD15.

### Compoziția reactivului

NCL-L-CD15-605 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

### Clasa Ig

IgM.

### Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

### Concentrație anticorpi

Nu este cazul.

### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

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

**Diluție sugerată:** 1:100 timp de 30 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:** Urmați instrucțiunile de utilizare pentru Novolink™ Polymer Detection Systems. Pentru informații sau asistență suplimentară 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

Depozitați la 2 – 8 °C. Nu congelați. Returnați la 2 – 8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data de expirare indicată pe eticheta flaconului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator.

### Pregătirea probei

Mediul de fixare recomandat este de 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 manevrarea sa.

Acest reactiv conține azidă de sodiu. Fișa cu informații de siguranță despre material este disponibilă la cerere sau poate fi obținută de pe site-ul [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

Probele, 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. Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul reactivilor și probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

Reduceți la minim contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice. Timpii sau temperaturile de incubare 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 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 colorație adecvate.

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

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

Țesutul de control pozitiv recomandat este rinichiul.

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 anticorpal 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 colorație. 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 pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

## Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ nespecific în locul anticorpalui primar cu o secțiune din fiecare probă a pacientului pentru a evalua colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorației specifice la locul aplicării antigenului.

## Țesutul pacientului

Examinați probele pacientului colorate cu NCL-L-CD15-605 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 set de anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Clona MMA a detectat proteina CD15 pe membrana celulară și în citoplasma celulelor epiteliale și a granulocitelor într-o varietate de țesuturi evaluate. Colorația a fost observată, de asemenea, la neuropilul cerebral și cerebelos, celulele Leydig din testicule, celulele mioeloide din măduva osoasă și corpusculii lui Hassall din timus. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 121).

### Țesuturi anormale

Clona MMA a colorat 38/46 malignități hematologice (inclusiv 38/44 limfoame Hodgkin, 0/1 limfoame anaplastice cu celule mari și 0/1 limfoame non-Hodgkin cu celule B). Clona MMA a colorat, de asemenea, 8/9 tumori intestinale, 4/5 tumori ale glandei tiroide, 4/5 tumori metastatice, 4/4 tumori pulmonare, 3/3 adenocarcinoame stomacale, 3/3 tumori de sân, 2/4 carcinoame hepatocelulare, 2/3 tumori ovariene, 2/3 carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului, 2/2 carcinoame renale cu celule clare, 2/2 adenocarcinoame ale prostatei, 2/2 carcinoame ale vezicii urinare cu celule de tranziție, 2/2 tumori ale glandei salivare, 1/2 tumori ale glandelor suprarenale, 1/2 adenocarcinoame endometriale, 1/1 adenocarcinom al pancreasului, 1/1 adenocarcinom al capului și gâtului și 1/1 carcinom al limbii cu celule scuamoase. Nu s-a detectat nici o colorație într-o varietate de țesuturi anormale suplimentare evaluate, inclusiv tumori cerebrale (0/4), tumori osoase (0/2), seminoame (0/2), tumori cervicale (0/2) și un melanom (0/1) (Numărul total de cazuri anormale evaluate = 111).

**NCL-L-CD15-605 este recomandat pentru detectarea proteinei CD15 în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochimici non-immunologici.**

## Limitări generale

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

Colorația tisulară depinde de manevrarea și procesarea țesutului înainte de colorație. Fixarea, congelarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea necorespunzătoare sau contaminarea cu alte țesuturi ori fluide pot cauza artefacte, captura anticorpalui 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 colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice utilizând proceduri de control adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de 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, 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

### **Amendamente la ediția anterioară**

Nu este cazul

### **Data publicării**

30 noiembrie 2018

# Жидкая форма мышинных моноклональных антител Novocastra™ CD15 (MMA)

Код продукта: NCL-L-CD15-605

## Назначение

Для диагностики *in vitro*.

NCL-L-CD15-605 предназначен для качественного определения белка CD15 человека в парафиновых срезах с помощью 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 процедуры

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 заключать под покровное стекло. Интерпретацию результатов выполняют под световым микроскопом и используют для дифференциальной диагностики патофизиологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с конкретным антигеном.

## Клон

MMA.

## Иммуноген

Мыши BALB/C с введенной гистиоцитарной клеточной линией U937.

## Специфичность

Человеческий антиген CD15.

## Состав реагента

NCL-L-CD15-605 — супернатант жидкой тканевой культуры, содержащий азид натрия в качестве консерванта.

## Класс иммуноглобулинов

IgM.

## Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка для каждой партии указана на этикетке флакона.

## Концентрация антител

Не применимо.

## Рекомендации по применению

Иммуногистохимия на парафиновых срезах.

**Высокотемпературная демаскировка антигена (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к раствору Novocastra Epitope Retrieval Solution с pH 6.

**Рекомендуемое разведение:** 1:100 в течение 30 минут при 25 °С. Эти указания следует считать ориентировочными, и пользователи должны сами определить свои оптимальные рабочие разведения.

**Визуализация:** Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к реагенту Novolink™ Polymer Detection Systems. За дополнительной информацией об этом продукте и поддержке обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems, либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)  
В случае применения этого антитела с другими ручными системами окрашивания или автоматизированными платформами следует выполнять валидацию его работоспособности.

## Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживать! Немедленно после применения вернуть в условия с температурой 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 реагент был изготовлен из супернатанта культуры клеток. При обращении с этим продуктом, как и с другими биологическими продуктами, следует соблюдать разумную осторожность.

Этот реагент содержит азид натрия. Паспорт безопасности материала (Material Safety Data Sheet) можно получить по запросу или загрузить с [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

В отношении утилизации любых потенциально токсичных компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.



Образцы (до и после фиксации) и все контактирующие с ними материалы следует считать способными к передаче инфекции, и при их утилизации следует соблюдать надлежащие меры предосторожности.<sup>1</sup> Никогда не набирайте реагенты в пипетку ртом! Избегайте контакта реагентов и образцов с кожей и слизистыми оболочками! В случае контакта реагентов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.

Сведите к минимуму микробное загрязнение реагентов во избежание усиления неспецифического окрашивания.

Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных, 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 вариативности результатов, в связи с чем требуется регулярное выполнение внутрилабораторных 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 тканевой контроль

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

Для каждого набора условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один положительный тканевой контроль.

Для оптимального контроля качества и обнаружения незначительного снижения качества реагента более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.<sup>2</sup>

В качестве ткани для положительного контроля рекомендуется почка.

При отсутствии положительного окрашивания положительного тканевого контроля результаты, полученные с исследуемыми образцами, считаются недействительными.

### Отрицательный тканевой контроль

Этот тест необходимо выполнять после положительного тканевого контроля для проверки специфичности маркировки целевого антигена первичным антителом.

В качестве ткани для отрицательного контроля рекомендуется скелетная мышца.

В качестве альтернативы в большинстве срезов тканей часто имеется множество различных типов клеток как мест отрицательного контроля, однако это должно быть проверено 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 дегенерировавшие клетки часто окрашиваются неспецифически.<sup>3</sup>

Неиммунное связывание белков или продуктов реакции с субстратом может привести к ложноположительным результатам. Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах),

эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, головном мозге или почке), в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания. Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифического связывания ферментов от специфической иммунореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно субстрат-хромогеном или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и субстрат-хромогеном, соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном тканевом контроле результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

### Отрицательный контроль реагента

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

### Ткань, полученная у пациента

Полученные у пациентов образцы, окрашенные с помощью NCL-L-CD15-605, исследуйте в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания отрицательного контроля реагента. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или тканях. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

### Ожидаемые результаты

#### Нормальные ткани

Клон MMA выявлял белок CD15 на клеточной мембране и в цитоплазме эпителиальных клеток и гранулоцитов в различных исследованных тканях. Окрашивание наблюдалось также в нейропиле головного мозга и мозжечка, клетках Лейдига в семеннике, миелиноидных клетках костного мозга и тельцах Гассала в тимусе. (Общее количество оцененных нормальных случаев = 121.)

#### Патологически измененные ткани

Клон MMA окрасил 38 из 46 гематологических злокачественных новообразований (в том числе 38 из 44 лимфом Ходжкина, 0 из 1 анапластической крупноклеточной лимфомы и 0 из 1 неходжкинской В-клеточной лимфомы). Клон MMA окрасил также 8 из 9 опухолей кишечника, 4 из 5 опухолей щитовидной железы, 4 из 5 метастатических опухолей, 4 из 4 опухолей лёгкого, 3 из 3 аденокарцином желудка, 3 из 3 опухолей молочной железы, 2 из 4 гепатоцеллюлярных карцином, 2 из 3 опухолей яичника, 2 из 3 плоскоклеточных карцином пищевода, 2 из 2 светлоклеточных карцином почки, 2 из 2 аденокарцином простаты, 2 из 2 переходо-клеточных карцином мочевого пузыря, 2 из 2 опухолей спянской железы, 1 из 2 опухолей надпочечника, 1 из 2 аденокарцином эндометрия, 1 из 1 аденокарциномы поджелудочной железы, 1 из 1 аденокарциномы головы и шеи, а также 1 из 1 плоскоклеточной карциномы языка. Окрашивания не было обнаружено в ряде дополнительных патологических тканей, подвергнутых оценке, включая опухоли головного мозга (0 из 4), костные опухоли (0 из 2), семиномы (0 из 2), опухоли шейки матки (0 из 2) и меланому (0 из 1) (Общее количество оцененных патологических случаев = 111.)

**NCL-L-CD15-605 рекомендуется для обнаружения белка CD15 в нормальных и опухолевых тканях в качестве дополнения к традиционным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.**

## Общие ограничения

Иммуногистохимическое исследование является многостадийным диагностическим процессом, требующим специальных навыков в выборе надлежащих реагентов; выборе, фиксации и обработке тканей; приготовлении ИГХ-микрореферата; интерпретации результатов окрашивания.

Окрашивание ткани зависит от обращения с тканью и её обработки перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями или жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам. Непостоянство результатов может быть связано с различиями методов фиксации и заливки или с присущей тканям неоднородностью.<sup>4</sup>

Избыточное или неполное контрастное окрашивание может привести к неправильной интерпретации результатов.

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

Изготовленные компанией Leica Biosystems Newcastle Ltd антитела предназначены, как указано выше, для применения на замороженных или залитых в парафин срезах и требуют выполнения конкретных требований по фиксации. Возможна непредвиденная экспрессия антигенов, 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. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

## Поправки к предыдущему выпуску

Не относится

## Дата выпуска

30 Ноябрь 2018

# Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™ CD15 (MMA)

## Kod produktu: NCL-L-CD15-605

### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Produkt NCL-L-CD15-605 jest przeznaczony do identyfikacji jakościowej w mikroskopie optycznym ludzkiego białka CD15 w skrawkach zatopionych w parafinie. Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocena powinna być przeprowadzona przez wykwalifikowanego patologa w kontekście historii klinicznej pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

### Procedura badania

Metody wybarwienia immunohistochemicznego (IHC) umożliwiają wizualizację antygenów za pomocą kolejnych zastosowań swoistego przeciwciała przeciwko antygenowi (pierwsze przeciwciało), drugiego przeciwciała do pierwszego przeciwciała i kompleksu enzymu z substratem chromogennym z etapami przemywania. Aktywacja enzymatyczna dodanego chromogenu powoduje utworzenie widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Następnie można wykonać barwienie negatywne próbki badanej i zakryć ją szkieletem przykrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu optycznego i są pomocne w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek lub mogą nie mieć związku z określonym antygenem.

### Skłonij

MMA.

### Immunogen

Myszy szczepu BALB/C ze wstrzykniętą linią komórek histocytowych U937.

### Swoistość

Ludzki antygen CD15.

### Skład odczynnika

NCL-L-CD15-605 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zawierającym azydek sodu jako substancję konserwującą.

### Klasa Ig

IgM.

### Całkowite stężenie białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

### Stężenie przeciwciał

Nie dotyczy.

### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne na skrawkach zatopionych w parafinie.

**Stosowanie podwyższonej temperatury do odzyskiwania epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania załączoną do roztworu Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Sugerowane rozcieńczenie:** 1:100 przez 30 minut w temperaturze 25 °C. Są to jedynie wskazówki i użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

**Wizualizacja:** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania podaną w produktach Novolink™ Polymer Detection Systems.

W sprawie dodatkowych informacji o produkcie lub w celu uzyskania 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)

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

### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2 °C–8 °C. Nie zamrażać. Po użyciu natychmiast przenieść do temperatury 2 °C–8 °C. Nie używać po upływie daty ważności wskazanej na etykiecie. Użytkownik musi sprawdzić warunki przechowywania inne niż wskazane powyżej.

### Przygotowanie preparatów

Zalecanym utrwalaczem jest 10% obojętna zbuforowana formalina przeznaczona dla skrawków tkankowych zatopionych w parafinie.

### Ostrzeżenia i środki ostrożności

Ten odczynnik został przygotowany dla supernatantu hodowli tkankowej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas postępowania z nim należy zachować odpowiednią ostrożność.

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

W sprawie utylizacji jakichkolwiek potencjalnie toksycznych składników należy zapoznać się z krajowymi lub miejscowymi przepisami.

Próbki, przed i po utrwaleniu oraz wszystkie materiały mające z nimi kontakt należy traktować jako potencjalnie zakaźne i usuwać przy zachowaniu odpowiednich środków ostrożności.<sup>1</sup> Nigdy nie pipetować odczynników ustami oraz unikać kontaktu odczynników i próbek badanych ze skórą i błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek z wrażliwymi miejscami należy umyć miejsca kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.

Należy ograniczyć skażenie odczynników drobnoustrojami, ponieważ w przeciwnym razie może dojść do nasilenia barwienia nieswoistego. Zastosowanie czasów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Każda taka zmiana musi zostać zwalidowana przez użytkownika.

### Kontrola jakości

Różnice w obróbce tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą spowodować istotną zmienność wyników, wymagającą oprócz następujących procedur prowadzenia regularnych kontroli wewnętrznych.

Kontrolę powinny być próbkami ze świeżej autopsji/biopsji/operacji chirurgicznej utrwalonymi, przygotowanymi i zatopionymi w parafinie najszybciej, jak to możliwe w taki sam sposób, jak badana próbka(i) pacjenta.

### Dodatnia kontrola tkankowa

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

Jedna dodatnia kontrola tkankowa powinna być uwzględniona w każdym zestawie warunków testu w każdej serii barwienia.

Dla optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej odpowiednia jest tkanka o słabym dodatnim wybarwieniu niż tkanka o silnym dodatnim wybarwieniu.<sup>2</sup>

Zalecaną dodatnią kontrolą tkankową jest nerka.

Jeśli tkanka kontroli dodatniej nie wykaże odpowiedniego dodatniego wybarwienia, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pacjenta należy uważać za nieważne.

### Ujemna kontrola tkankowa

Należy ją badać po tkance kontroli dodatniej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygenu przez pierwsze przeciwciało.

Zalecaną ujemną kontrolą tkankową są mięśnie szkieletowe.

Alternatywnie różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkankowych oferuje miejsca kontroli ujemnej, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Wybarwienie nieswoiste, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utrwalonego w formalinie może być widoczne również sporadyczne wybarwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieuszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują nieswoiste barwienie.<sup>3</sup> Wyniki fałszywie dodatnie mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratów. Mogą być również spowodowane przez endogenne enzymy, takie jak pseudoperoxydaza (erytrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna biotylna (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta mogą być barwione wyłącznie substratem chromogenem lub kompleksem enzymatycznym (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenem. Jeżeli pojawi się swoiste wybarwienie tkanki kontroli ujemnej, wyniki uzyskane dla próbek pacjenta należy uznać za nieważne.

### Ujemna kontrola odczynnika

Zastosować nieswoisty odczynnik kontroli ujemnej w miejsce pierwszego przeciwciała wraz ze skrawkiem każdej próbki pacjenta dla oceny nieswoistego barwienia oraz uwzględnić lepszą interpretację swoistego barwienia w miejscu antygenu.

### Tkanka pacjenta

Próbki pacjenta wybarwione testem NCL-L-CD15-605 należy badać jako ostatnie. Intensywność wybarwienia dodatniego należy oceniać w kontekście ewentualnego nieswoistego wybarwienia tła odczynnika kontroli ujemnej. Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygenu nie wykryto, co nie znaczy, że antygen nie jest obecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności wykorzystać panel przeciwciał do identyfikacji fałszywie ujemnych reakcji.

### Oczekiwane wyniki

#### Tkanki prawidłowe

Klon MMA wykrywał białko CD15 na błonie komórkowej i w cytoplazmie komórek nabłonkowych i granulocytów w różnych badanych komórkach. Obserwowano również wybarwienie w granulocytach obojętnochłonnych mózgu i mózdzku, komórkach Leydiga w jądrach, komórkach szpiku kostnego i w krwinkach Hassalla w grasicy. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 121).

#### Tkanki patologiczne

Klon MMA wybarwiał 38/46 hematologicznych nowotworów złośliwych (w tym 38/44 chłoniaków Hodgkina, 0/1 chłoniaków anaplastycznych z dużych komórek i 0/1 chłoniaków niezajczymych typu B). Klon MMA wybarwił również 8/9 przypadków raka jelit, 4/5 przypadków raka tarczycy, 4/5 przypadków raka z przerzutami, 4/4 przypadki raka płuc, 3/3 przypadki gruczolaka raka żołądka, 3/3 przypadki raka piersi, 2/4 przypadki raka wątrobowokomórkowego, 2/3 przypadki raka jajników, 2/3 przypadki raka płaskonabłonkowego przelyku, 2/2 przypadki raka jasnokomórkowego nerek, 2/2 przypadki raka gruczołu krokowego, 2/2 przypadki raka komórek przejściowych pęcherza moczowego, 2/2 przypadki raka gruczołu śliniankowego, 1/2 przypadki raka nadnerczy, 1/2 przypadki gruczolaka raka błony śluzowej macicy, 1/1 przypadek gruczolaka raka trzustki, 1/1 przypadek gruczolaka raka głowy i szyi oraz 1/1 przypadek raka płaskonabłonkowego języka. Nie stwierdzono wybarwienia w różnych ocenianych dodatkowych tkankach nieprawidłowych, w tym w przypadku raka mózgu (0/4), raka kości (0/2), raka nasieniaków (0/2), raka szyjki macicy (0/2) i czerniaka (0/1) (Całkowita liczba ocenianych przypadków nieprawidłowych = 111).

**Test NCL-L-CD15-605 jest zalecany do wykrywania białka CD15 w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histochemicznym.**

## Ograniczenia ogólne

Badanie immunohistochemiczne polega na wieloetapowym procesie diagnostycznym, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników, doborze tkanek, utrwalanii oraz przygotowaniu; przygotowaniu szkiełek immunohistochemicznych oraz interpretacji wyników wybarwienia.

Wybarwienie tkanek zależy od postępowania i przygotowania tkanki przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalenie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, dzielenie na skrawki lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub fałszywie ujemne wyniki. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i zatapiania lub z powodów nieprawidłowości samej tkanki.<sup>4</sup>

Nadmierne lub niepełne barwienie ujemne może pogarszać interpretację wyników.

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii klinicznej pacjenta oraz innych badań diagnostycznych. Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do stosowania zgodnie z przeznaczeniem na skrawkach zamrożonych lub na skrawkach zatopionych w parafinie i po spełnieniu określonych wymagań utrwalania. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygenu, szczególnie w przypadku raków. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę odpowiednich kontroli.

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. Translational Oncology. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. The American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? Haematologica. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. The American Journal of Surgical Pathology. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. The American Journal of Surgical Pathology. 2003; 27(12):1513-1522.

## Poprawki do poprzedniego wydania

Nie dotyczy

## Data publikacji

30 listopada 2018

# Tekočinsko monoklonsko protitelo Novocastra™ iz miši CD15 (MMA)

## Koda izdelka: NCL-L-CD15-605

### Predvidena uporaba

Za *diagnostično uporabo in vitro*.

Izdelek NCL-L-CD15-605 je namenjen za kvalitativno identifikacijo humanega proteina CD15 v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

### Osnove postopka

Imunohistokemične (IHK) 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 encima kompleksa s kromogenim substratom. Encimska aktivacija kromogena povzroči vidno reakcijo izdelka na mestu antigena. Tak vzorec lahko nato nasprotno barvamo in pokrijemo z 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

MMA.

### Imunogen

BALB/C miši, injiciran s histiocitozno celično linijo U937.

### Specifičnost

Humani antigen CD15.

### Sestava reagenta

NCL-L-CD15-605 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje natrijev azid kot konzervans.

### Klasa imunoglobulina

IgM.

### Skupna koncentracija proteina Total Protein

Glejte etiketo na folii za skupno koncentracijo proteina določene serije.

### Koncentracija protitelesa

Navedba smiselno ni potrebna.

### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

**Toplotno izzvano razkrivanje epitopov (HIER):** Sledite navodilom za uporabo raztopine za razkrivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Predlagano redčenje:** 1:100 za 30 minut pri 25 °C. To je samo vodilo; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne razredčine.

**Vizualizacija:** Sledite navodilom za uporabo sistemov za zaznavanje polimerov Novolink™ Polymer Detection Systems. Za več podatkov o izdelku ali podporo se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno podjetja Leica Biosystems, lahko pa tudi obiščete spletno mesto podjetja Leica Biosystems na [www.LeicaBiosystems.com](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

Hranite pri temperaturah 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi vrnite v okolje s temperaturo 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti. 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, pripravljene v parafinu.

### Opozorila in previdnostni ukrepi

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

Ta reagent vsebuje natrijev azid. Če želite varnostni list, nam sporočite; najdete ga lahko tudi na spletnem mestu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Sledite federativnim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerihkoli morebitno strupenih sestavin.

Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim 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 zdravstveni nasvet.

Pazite, da ne pride do mikrobnih okužb reagentov, drugače se lahko poveča nespecifično obarvanje.

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 z blagim pozitivnim obarvanjem kot tkivo z močnim pozitivnim obarvanjem.<sup>2</sup>

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo iz ledvic.

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 negativni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo iz kostne mišice.

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

Neopredeljeno obarvanje, če je prisotno, je navadno 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> Napačni pozitivni rezultati se lahko pojavijo zaradi ne-immunološke vezave proteinov ali reakcijskih substrat izdelkov. Povzročijo jih lahko tudi endogeni encimi, kot so psevdoperokeksidaza (eritrociti), endogena peroksidaza (citokromni C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvila. Za razlikovanje med endogeno aktivnostjo encimov ali nespecifično vezavo encimov zaradi specifične imunske reaktivnosti, lahko barvate dodatna tkiva bolnika izključno ali s kromogenim substratom ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) in kromogenim substratom. Če pride do specifičnega obarvanja negativnih kontrolnih vzorcev tkiva, morate rezultate vzorcev bolnika zavreči kot neveljavne.

### Negativni kontrolni vzorci

Za oceno nespecifičnega obarvanja 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-CD15-605. 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 preizkušeni celicih/tkivih. Po potrebi uporabite panel protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon MMA je zaznal protein CD15 na celični membrani in v citoplazmi epitelijskih celic in granulocitov v različnih ocenjenih tkivih. Obarvanje so opazili tudi v nevroplilu malih in velikih možganov, Leydigovih celicah v modih, mieloblastih kostnega mozga in Hassallovih telesih v priželjcu. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 121).

### Anomalna tkiva

Klon MMA je obarval 38/46 hematoloških rakavih primerov (vključno z 38/44 Hodgkinovih limfomov, 0/1 anaplastičnega velikoceličnega limfoma in 0/1 ne-Hodgkinovega B-celičnega limfoma). Klon MMA je obarval tudi 8/9 tumorjev na mehurju, 4/5 tumorjev na ščitnici, 4/5 metastatičnega tumorjev, 4/4 tumorjev na pljučih, 3/3 adenokarcinomov na želodcu, 3/2 tumorjev na dojkah, 2/4 hepatocelularnih karcinomov, 2/3 tumorjev na jajčnikih, 2/3 ploščatoceličnih karcinomov na požiralniku, 2/2 svetloceličnih karcinomov na ledvicah, 2/2 adenokarcinomov, 2/2 prehodnoceličnih karcinomov na mehurju, 2/2 tumorjev slinavke, 1/2 tumorjev nadledvičnih žlez, 1/2 adenokarcinomov endometrija, 1/1 adenokarcinoma trebušne slinavke, 1/1 adenokarcinoma glave in vratu in 1/1 ploščatoceličnega karcinoma na jeziku. Obarvanja niso opazili v različnih dodatnih anomalnih tkivih, ki so jih ocenjevali, vključno s tumorji na možganih (0/4), tumorjema na kosteh (0/2), seminomama (0/2), tumorjema na materničnem vratu (0/2) in melanomom (0/1). (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 111).

**Izdelek NCL-L-CD15-605 se priporoča za zaznavanje proteina CD15 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunoloških histokemičnih 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, zmrzovanje, odtajevanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali napačne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega.<sup>4</sup>

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

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

Protitelesa podjetja Leica Biosystems Newcastle Ltd so namenjena uporabi, kot je navedeno, na zamrznjenih ali parafinsko obdelanih rezinah z določenimi zahtevami za fiksiranje. Lahko pride do nepričakovane reakcije antigena, posebno pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.

### **Splošna literatura**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F, Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

### **Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji**

Navedba smiselno ni potrebna

### **Datum izdaje**

30 november 2018



# Tekutá myši monoklonální protilátka Novocastra™ CD15 (MMA)

## Kód výrobku: NCL-L-CD15-605

### Určené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-CD15-605 je určen ke kvalitativnímu stanovení lidského proteinu CD15 světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

### Princip metody

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

### Klon

MMA.

### Imunogen

Myši BALB/C injikované histiocytickou buněčnou linií U937.

### Specifita

Lidský CD15 antigen.

### Složení reagensie

NCL-L-CD15-605 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

### Třída Ig

IgM.

### Koncentrace celkového proteinu Total Protein

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

### Koncentrace protilátek

Nevztahuje se.

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

**Vizualizace:** Postupujte podle návodu k použití k systémům Novolink™ Polymer Detection Systems. Další informace o produktu nebo podporu si vyžádejte od místního distributora nebo regionální kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo alternativně navštivte web společnosti 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.](#)

### Uchovávání a stabilita

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

### Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro parafinové tkáňové řezy je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

### Varování a bezpečnostní opatření

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

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

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

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

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

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

## Kontrola jakosti

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

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

## 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 reagenzie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.<sup>2</sup>

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je ledvina.

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 ověřit.

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 (erytrocyty), endogenní peroxidáza (cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarvíva. K odlišné aktivitě endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáně pacienta vylučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

## Negativní reagenční kontrola

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

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetříte vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-CD15-605. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadu i negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon MMA detekoval protein CD15 na buněčné membráně a v cytoplazmě epitelových buněk a granulocytů v celé řadě vyhodnocených tkání. Barvení bylo pozorováno také v neuroplu velkého a malého mozku, v Leydigových buňkách varlat, v myeloidních buňkách kostní dřeně a v Hassalových těliscích brzlíku. (Celkový počet vyšetřených normálních tkání = 121.)

### Abnormální tkáň

Klon MMA zabarvil 38/46 hematologických malignancí (včetně 38/44 Hodgkinových lymfomů, 0/1 anaplastického velkobuněčného lymfomu a 0/1 ne-Hodgkinova B-buněčného lymfomu). Klon MMA rovněž zbarvil 8/9 nádorů stěva, 4/5 nádorů štítné žlázy, 4/5 metastatických nádorů, 4/4 nádorů plic, 3/3 adenokarcinomů žaludku, 3/3 nádorů prsu, 2/4 hepatocelulárních karcinomů, 2/3 nádorů ovaria, 2/3 dlaždicobuněčných karcinomů jícnu, 2/2 ledvinových karcinomů jasných buněk, 2/2 prostatických adenokarcinomů, 2/2 karcinomů přechodových buněk močového měchýře, 2/2 nádorů slinné žlázy, 1/2 nádorů nadledvinek, 1/2 endometriálních adenokarcinomů, 1/1 pankreatického adenokarcinomu, 1/1 adenokarcinomu hlavy a krku a 1/1 dlaždicobuněčného karcinomu jazyka. Žádné barvení nebylo detekováno v celé řadě dalších hodnocených abnormálních tkání, včetně nádorů mozku (0/4), nádorů kosti (0/2), seminomů (0/2), nádorů děložního hrdla (0/2) a melanomu (0/1) (celkový počet hodnocených abnormálních případů = 111).

**NCL-L-CD15-605 se doporučuje k detekci proteinu CD15 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 v specializovaném školení ve výběru vhodných reagenzií; výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě IHC sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení.

Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití, 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 morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Protílátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají podle indikace u zmrazených 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 morfologickou analýzu a zhodnocení příslušných kontrol.

## Literatura - všeobecná

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. Translational Oncology. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. The American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? Haematologica. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. The American Journal of Surgical Pathology. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. The American Journal of Surgical Pathology. 2003; 27(12):1513-1522.

## Opravy předchozího vydání

Nevztahuje se

## Datum vydání

30 listopad 2018

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™ CD15 (MMA)

## Kód produktu: NCL-L-CD15-605

### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-CD15-605 slúži na kvalitatívnu identifikáciu ľudského proteínu CD15 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

MMA.

### Imunogén

Myši BALB/C, ktorým bola injekčne vstreknutá histiocystická bunková línia U937.

### Špecificita

Ľudský antigén CD15.

### Zloženie činidla

NCL-L-CD15-605 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

### Trieda Ig

IgM.

### Celková koncentrácia proteínov

Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifických pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

### Koncentrácia protilátok

Neuplatňuje sa.

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

**Vizualizácia:** Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink™ Polymer Detection Systems. Ďalšie informácie o produkte alebo podporu vám poskytne váš miestny distribútor alebo lokálne zastúpenie spoločnosti Leica Biosystems. Takisto môžete navštíviť internetovú stránku spoločnosti Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Funkčnosť tejto protilátky je nutné validovať pri použití s inými manuálnymi systémami farbenia alebo automatizovanými platformami.

### Uskladnenie a stabilita

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

### Príprava vzorky

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

### Varovania a bezpečnostné opatrenia

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

Toto činidlo obsahuje azid sodný. Materiálový bezpečnostný list je k dispozícii na požiadanie alebo na stránkach [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.

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

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

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

### Kontrola kvality

Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môžu viesť k významnému kolísaniu výsledkov, čo si vyžaduje, okrem nasledujúcich postupov, aj pravidelné interné kontroly.

Kontroly by mali byť čerstvé pitevne/bioptické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formálnom a spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

### Positívna 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 čidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.<sup>2</sup>

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je oblička.

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

### Negatívna kontrola tkanivom

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

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu je kostrový sval.

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

Prípadné nešpecifické farbenie má obvykle difúznú vzhľad. V rezoch tkanív silne fixovaných formálnom 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. pseudoperoxidáza (erythrocyty), endogénna peroxidáza (cytochróm C) alebo endogénny biotín (napr. pečeň, prsník, mozog, oblička) v závislosti od typu imunologického farbenia. S cieľom diferencovať endogénnu enzymatickú aktivitu alebo nešpecifickú väzbu enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžete nafarbiť ďalšie vzorky tkaniv 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-CD15-605 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. Nepotvrďujte jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

### Očakávané výsledky

#### Normálne tkanivá

Klon MMA detegoval proteín CD15 na bunkovej membráne a v cytoplazme epitelových buniek a granulocytov rôznych hodnotených tkanív. Zafarbenie sa pozorovalo aj v neuropile mozgu a mozočka, Leydigových bunkách v semenníkoch, myeloidných bunkách v kostnej dreni a Hassalových teleskách v týmuse. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 121).

#### Abnormálne tkanivá

Klon MMA zafarbil 38/46 hematologických malignít (vrátane 38/44 Hodgkinových lymfómov, 0/1 anaplastického veľkobunkového lymfómu a 0/1 non-Hodgkinovho lymfómu B-buniek). Klon MMA zafarbil aj 8/9 nádorov čreva, 4/5 nádorov štítnej žľazy, 4/5 metastatických nádorov, 4/4 nádorov pľúc, 3/3 adenokarcinómov žalúdka, 3/3 nádorov prsníka, 2/4 hepatocelulárnych karcinómov, 2/3 nádorov vaječníkov, 2/3 skvamocelulárnych karcinómov pažeráka, 2/2 karcinómov svetlých buniek obličky, 2/2 prostatatických adenokarcinómov, 2/2 karcinómov prechodných buniek močového mechúra, 2/2 nádorov slinnej žľazy, 1/2 nádorov nadobličiek, 1/2 adenokarcinómov endometria, 1/1 adenokarcinómu pankreasu, 1/1 adenokarcinómu hlavy a krku a 1/1 skvamocelulárneho karcinómu jazyka. Žiadne farbenie sa nepozorovalo v rôznych ďalších abnormálnych hodnotených tkanivách vrátane nádorov mozgu (0/4), kostných nádorov (0/2), seminómov (0/2), cervikálnych nádorov (0/2) a melanómu (0/1) (celkový počet abnormálnych hodnotených prípadov = 111).

**NCL-L-CD15-605 sa odporúča na detekciu proteínu CD15 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.**

### Všeobecné limitácie

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

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

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

### **Bibliografia – všeobecne**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Mao X, Zhang X, Xue X, et al. Brain tumor stem-like cells identified by neural stem cell marker CD15. *Translational Oncology*. 2009; 2(4): 247-257.
6. Wong A, Lopategui J, Clancy S, et al. Anaplastic large cell lymphoma associated with a breast implant capsule: a case report and review of the literature. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008; 32(8):1265-1268.
7. Pellegrini W, Bresciani G, De Zorzi A, et al. MMA monoclonal antibody is a superior anti-CD15 reagent for the diagnosis of classical Hodgkin's lymphoma? *Haematologica*. 2007; 92(5):708-709.
8. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, et al. ALK positive anaplastic large cell lymphoma mimicking nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma: Report of 10 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2006; 30(2):223-229.
9. Barry TS, Jaffe ES, Sorbara L, et al. Peripheral T-cell lymphomas expressing CD30 and CD15. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(12):1513-1522.

### **Úpravy predchádzajúceho vydania**

Neuplatňuje sa

### **Dátum vydania**

30. november 2018



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