

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD19

**Product Code: NCL-L-CD19-163**

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



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

## Instructions for Use

Please read before using this product.

### Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

### Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

### Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

### Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

### Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

### Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

### Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

### Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

### Gebbruksinstrucities

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.

### Instruçiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

### Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## Check the integrity of the packaging before use.

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

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

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD19

**Product Code: NCL-L-CD19-163**

## Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-CD19-163 is intended for the qualitative identification by light microscopy of human CD19 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

BT51E

## Immunogen

A prokaryotic fusion protein containing part of the C-terminal region of the human CD19 molecule.

## Specificity

Human CD19.

## Reagent Composition

NCL-L-CD19-163 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

## Ig Class

IgG2b

## Total Protein Concentration

Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

## Antibody Concentration

Greater than or equal to 35 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for lot specific Ig concentration.

## Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

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

**Suggested dilution:** 1:50 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 autopsies/biopsy/surgical specimens, formalin-fixed, processed and paraffin wax-embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s).

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

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

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

Recommended positive control tissue is tonsil.

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

## Negative Tissue Control

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

Recommended negative control tissue is cerebellum.

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

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

## Negative Reagent Control

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

## Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-CD19-163 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 BT51E detected the CD19 protein expressed on the membrane of follicular dendritic cells and cells of the B cell lineage, except plasma cells. Staining was noted in the mantle zones and germinal centres of tonsil and tissue-infiltrating B lymphocytes. (Total number of normal cases = 45).

### Abnormal Tissues

Clone BT51E stained 100/106 diffuse large B-cell lymphomas, 12/12 chronic lymphocytic lymphomas, 9/11 follicular lymphomas, 6/7 mantle cell lymphomas, 1/11 Hodgkin's disease, 1/1 B-cell acute lymphoblastic lymphoma, 1/1 primitive B/T cell acute lymphoblastic lymphoma and 1/1 marginal zone lymphoma. No staining was observed in T-cell anaplastic large cell lymphomas (0/6), angioimmunoblastic T-cell lymphomas (0/4), T/NK lymphomas (0/3), a peripheral T-cell lymphoma (0/1), a T-cell lymphoma (0/1), tumors of the thyroid (0/4), lung tumors (0/4), ovarian tumors (0/4), liver tumors (0/4), brain tumors (0/2), esophageal tumors (0/2), breast tumors (0/2), gastric tumors (0/2), soft tissue tumors (0/2), tumors of the tongue (0/2), metastatic tumors of unknown origin (0/2), kidney tumors (0/2), cervical tumors (0/2), testicular tumors (0/2), tumors of the colon (0/2), rectal tumors (0/2), skin tumors (0/2), a tumor of the larynx (0/1) or a tumor of the thymus (0/1). (Total number of tumor cases evaluated = 209).

**NCL-L-CD19-163 is recommended for the detection of human CD19 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. *Journal of Dermatological Science*. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. *The Journal of Immunology*. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. *Seminars in Immunology*. 1998; 10:267-277.

## **Amendments to Previous Issue**

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

## **Date of Issue**

05 October 2018

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal Liquide de Souris CD19

## Référence du Produit: NCL-L-CD19-163

### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

NCL-L-CD19-163 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de l'antigène humain CD19 dans les coupes en inclusion de paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière 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

BT51E

### Immunogène

Protéine de fusion procaryote contenant une partie de la région C-terminale de la molécule humaine CD19.

### Spécificité

CD19 humaine.

### Composition du Réactif

Le NCL-L-CD19-163 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azide de sodium comme conservateur.

### Classe d'Ig

IgG2b

### Concentration Totale en Protéines

Total Protein

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

### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 35 mg/L, déterminée par la méthode ELISA. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Récupération d'épitopes induite par la chaleur (HIER):** Suivre les instructions pour utilisation avec la Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Dilution préconisée:** 1:50 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.

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

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

### Conservation et Stabilité

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

### Préparation des Spécimens

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

### Mises en Garde et Précautions

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

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

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

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

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

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

## Contrôle de Qualité

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

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

## Tissu de Contrôle Positif

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

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

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

Le tissu de contrôle positif recommandé est les amygdales.

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

## Tissu de Contrôle Négatif

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

Le tissu de contrôle négatif recommandé est le cerveau.

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

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

## Réactif de Contrôle Négatif

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

## Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-CD19-163 en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

## Résultats Attendus

### Tissus normaux

Le clone BT51E a détecté la protéine CD19 exprimée sur la membrane des cellules dendritiques folliculaires et des cellules de la lignée cellulaire B, à l'exception des plasmocytes. Une coloration a été observée dans les zones du manteau et les centres germinatifs des amygdales et dans les lymphocytes B infiltrant les tissus. (Nombre total de cas normaux = 45).

### Tissus anormaux

Le clone BT51E a permis de colorer 100/106 lymphomes diffus à grandes cellules B, 12/12 leucémies lymphocytaires chroniques, 9/11 lymphomes folliculaires, 6/7 lymphomes du manteau, 1/11 maladie de Hodgkin, 1/1 leucémie lymphoblastique aiguë à cellules B, 1/1 leucémie aiguë lymphoblastique à cellules B/T primitive et 1/1 lymphome de la zone marginale. Aucune coloration n'a été observée dans des lymphomes anaplasiques à grandes cellules T (0/6), des lymphomes à cellules T angio-immunoblastiques (0/4), des lymphomes à cellules T/NK (0/3), un lymphome à cellules T périphériques (0/1), un lymphome à cellules T (0/1), des tumeurs de la thyroïde (0/4), des tumeurs pulmonaires (0/4), des tumeurs ovariennes (0/4), des tumeurs du foie (0/4), des tumeurs cérébrales (0/2), des tumeurs de l'œsophage (0/2), des tumeurs du sein (0/2), des tumeurs de l'estomac (0/2), des tumeurs des tissus mous (0/2), des tumeurs de la langue (0/2), des tumeurs métastatiques d'origine inconnue (0/2), des tumeurs du rein (0/2), des tumeurs du col de l'utérus (0/2), des tumeurs testiculaires (0/2), des tumeurs du côlon (0/2), des tumeurs du rectum (0/2), des tumeurs de la peau (0/2), une tumeur du larynx (0/1) et une tumeur du thymus (0/1). (Nombre total de cas de tumeurs évaluées = 209).

**Le NCL-L-CD19-163 est recommandé pour la détection de la protéine CD19 humaine dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.**

## Limites Générales

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

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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. *Journal of Dermatological Science*. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. *The Journal of Immunology*. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. *Seminars in Immunology*. 1998; 10:267-277.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

Composition réactif, Concentration totale de protéines, Recommandations d'usage, Avertissements et Précautions, Résultats prévus.

## Date de Publication

05 octobre 2018



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido CD19

## Codice Del Prodotto: NCL-L-CD19-163

### Uso Previsto

*Per uso diagnostico in vitro.*

NCL-L-CD19-163 è progettato per l'identificazione qualitativa in microscopia ottica di sezioni di molecola CD19 umana incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

### Principio Della Procedura

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

### Clone

BT51E

### Immunogeno

Una proteina di fusione procariotica contenente parte della regione C-terminale della molecola CD19 umana.

### Specificità

CD19 umana.

### Composizione Del Reagente

NCL-L-CD19-163 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente di sodio azide come conservante.

### Classe Ig

IgG2b

### Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

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

### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 35 mg/L, come determinato mediante test ELISA. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

### Raccomandazioni Per L'uso

Immunostochimica su sezioni incluse in paraffina.

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

**Diluizione raccomandata:** 1:50 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.<sup>1</sup> Non pipettare i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con zone sensibili, sciacquare abbondantemente le parti interessate. Consultare il medico.

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

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

### Controllo Qualità

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

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

### Controllo Positivo Del Tessuto

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

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

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

Il tessuto di controllo positivo raccomandato è la tonsilla.

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

### Controllo Negativo Del Tessuto

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

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

La colorazione aspecifica, se presente, assume di solito aspetto diffuso. La colorazione sporadica del tessuto connettivo può anche manifestarsi in seguito ad iperfissazione di sezioni di tessuto in formalina. Per l'interpretazione dei risultati della colorazione, usare cellule intatte. Le cellule necrotiche o degenerate si colorano spesso in maniera aspecifica<sup>3</sup>. Si possono osservare risultati falsamente positivi, dovuti a legame non immunologico delle proteine o a prodotti di reazione del substrato. Tali falsi positivi possono essere anche causati da enzimi endogeni quali la pseudoperossidasi (eritrociti), la perossidasi endogena (citocromo C) o la biotina endogena (es. fegato, mammella, cervello, rene), a seconda del tipo di immunocoloreazione 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.

### Tessuti Del Paziente

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-CD19-163. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunostochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

### Risultati Attesi

#### Tessuti normali

Il clone BT51E ha rilevato la proteina CD19 espressa sulla membrana delle cellule dendritiche follicolari e le cellule della linea cellulare B, eccetto le cellule plasmatiche. La colorazione è stata notata nella zone mantellari e nei centri germinali della tonsilla e linfociti B infiltranti il tessuto. (Numero totale di casi normali = 45).

#### Abnorme dei tessuti

Il clone BT51E ha colorato 100/106 linfomi diffusi a grandi cellule B, 12/12 linfomi linfocitici cronici, 9/11 linfomi follicolari, 6/7 linfomi mantellari, 1/11 linfoma di Hodgkin, 1/1 linfoma linfoblastico acuto a cellule B, 1/1 linfoma linfoblastico primitivo acuto a cellule B/T e 1/1 linfoma della zona marginale. Non è stata osservata alcuna colorazione in linfomi anaplastici a grandi cellule T (0/6), linfomi angioimmunoblastici a cellule T (0/4), linfomi T/NK (0/3), un linfoma periferico a cellule T (0/1), un linfoma a cellule T (0/1), tumori della tiroide (0/4), tumori del polmone (0/4), tumori ovarici (0/4), tumori del fegato (0/4), tumori del cervello (0/2), tumori esofagei (0/2), tumori del seno (0/2), tumori gastrici (0/2), tumori dei tessuti molli (0/2), tumori della lingua (0/2), tumori metastatici di origine sconosciuta (0/2), tumori del rene (0/2), tumori cervicali (0/2), tumori testicolari (0/2), tumori del colon (0/2), tumori rettali (0/2), tumori della pelle (0/2), un tumore della laringe (0/1) o un tumore del timo (0/1). (Numero totale di casi di tumore esaminati = 209).

**L'uso di NCL-L-CD19-163 è consigliato per il rilevamento della proteina CD19 umana in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.**

## Limitazioni Generali

L'immunocistochemica 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

## Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

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

## Data Di Pubblicazione

05 ottobre 2018

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper CD19

## Produkt-Nr.: NCL-L-CD19-163

### Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-CD19-163 ist zur qualitativen lichtmikroskopischen Bestimmung von humanem CD19-Antigen in Paraffinschnitten 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

BT51E

### Immunogen

Ein prokaryotisches Fusionsprotein, welches dem C-terminalen Ende des humanen CD19-Moleküls entspricht.

### Spezifität

Humanes CD19.

### Reagenzzusammensetzung

NCL-L-CD19-163 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

### Ig-Klasse

IgG2b

### Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

### Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 35 mg/L laut ELISA-Bestimmung. Hinsichtlich der chargenspezifischen Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

### Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten

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

**Empfohlene Verdünnung:** 1:50 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 Gewebearbeitung 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 Autoptie-/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 Tonsille 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 Zerebellum empfohlen.

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

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

## Negative Reagenzkontrolle

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

## Patientengewebe

Die mit NCL-L-CD19-163 gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Bei Bedarf sollte zur Identifizierung falsch-negativer Reaktionen eine Gruppe von Antikörpern verwendet werden.

## Erwartete Ergebnisse

### Normale Gewebe

Klon BT51E wies das CD19-Protein nach, das auf der Membran von follikulären dendritischen Zellen und Zellen der B-Zelllinie (mit Ausnahme von Plasmazellen) exprimiert wird. In den Mantelzonen und Keimzentren von Tonsille und gewebeinfiltrierenden B-Lymphozyten wurde eine Färbung beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeproben = 45).

### Anomale Gewebe

Klon BT51E zeigte bei 100/106 diffusen großzelligen B-Zell-Lymphomen, 12/12 chronischen lymphozytischen Lymphomen, 9/11 follikulären Lymphomen, 6/7 Mantelzell-Lymphomen 1/11 Morbus Hodgkin, und je einem Vorläufer-B-Lymphoblastischen Lymphom (1/1), Vorläufer-B/T-lymphoblastischen Lymphom (1/1) und Marginalzonen-Lymphom (1/1) eine Färbung. Beim anaplastisch großzellige T-Zell-Lymphom (0/6), angioimmunoblastischen T-Zell-Lymphom (0/4), T/NK-Zell-Lymphomen (0/3), einem peripheren T-Zell-Lymphom (0/1), einem T-Zell-Lymphom (0/1), Tumoren von Schilddrüse (0/4), Lunge (0/4), Eierstöcken (0/4), Leber (0/4), Gehirn (0/2), Ösophagus (0/2), Brust (0/2), Magen (0/2), bei Weichteiltumoren (0/2), Tumoren von Zunge (0/2), metastatischen Tumoren unbekanntes Ursprungs (0/2), Tumoren von Niere (0/2), Zervix (0/2), Testikeln (0/2), Colon (0/2), Rektum (0/2), Haut (0/2), einem Tumor des Larynx (0/1) bzw. einem Tumor des Thymus (0/1) wurde keine Färbung nachgewiesen. (Anzahl der insgesamt untersuchten Tumorgewebeproben = 209).

**NCL-L-CD19-163 wird für den Nachweis von humanem CD19 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-Objekträgers sowie Bewertung der Färberegebnisse.

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

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

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

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

## Literatur - Allgemein

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

## Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

Reagenzienzusammensetzung, Gesamtproteinkonzentration, Anwendungsempfehlungen, Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen, erwartete Ergebnisse.

## Ausgabedatum

05 Oktober 2018

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal Líquidos de Ratón CD19

## Código De Producto: NCL-L-CD19-163

### Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-CD19-163 está indicado para la identificación cualitativa mediante microscopía óptica de moléculas CD19 humanas en secciones de parafina. 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

BT51E

### Inmunógeno

Proteína recombinante procarciómica correspondiente a la región terminal C de la molécula humana CD19.

### Especificidad

CD19 humana.

### Composición Del Reactivo

NCL-L-CD19-163 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

### Clase de Ig

IgG2b

### Concentración Total De Proteína Total Protein

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

### Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 35 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

### Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

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

**Dilución sugerida:** 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

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

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

### Almacenamiento Y Estabilidad

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

### Preparación De Las Muestras

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

### Advertencias Y Precauciones

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

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

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

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

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

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

## Control De Calidad

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

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

## Control Tisular Positivo

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

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

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

El tejido de control positivo recomendado es el de amígdalas.

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 el de cerebelo.

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

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

## Control De Reactivo Negativo

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

## Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-CD19-163 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 BT51E detectó la proteína CD19 expresada en la membrana de células dendríticas foliculares y células de la línea celular B, excepto células plasmáticas. Se observó tinción en las zonas del manto y centros germinales de la amígdala, así como en los linfocitos B que se infiltran en los tejidos. (Número total de casos normales evaluados = 45).

### Anormal del tejido

El clon BT51E produjo la tinción en 100/106 linfomas B difusos de células grandes, 12/12 linfomas linfocíticos crónicos, 9/11 linfomas foliculares, 6/7 linfomas de células del manto, 1/11 enfermedad de Hodgkin, 1/1 linfoma linfoblástico agudo de linfocitos B, 1/1 linfoma linfoblástico agudo de linfocitos B/T primitivos y 1/1 linfoma de la zona marginal. No se observó tinción en los linfomas anaplásicos de células grandes de linfocitos T (0/6), linfomas de linfocitos T angioinmunoblásticos (0/4), linfomas T/NK (0/3), linfoma periférico de linfocitos T (0/1), linfoma de linfocitos T (0/1), tumores tiroideos (0/4), tumores de pulmón (0/4), tumores ováricos (0/4), tumores hepáticos (0/4), tumores cerebrales (0/2), tumores esofágicos (0/2), tumores de mama (0/2), tumores gástricos (0/2), tumores de los tejidos blancos (0/2), tumores de lengua (0/2), tumores metastásicos de origen desconocido (0/2), tumores hepáticos (0/2), tumores cervicales (0/2), tumores testiculares (0/2), tumores del colon (0/2), tumores rectales (0/2), tumores de piel (0/2), tumor de la laringe (0/1) o un tumor del timo (0/1). (Número total de casos de tumor evaluados = 209).

**El NCL-L-CD19-163 está recomendado para la detección de la proteína CD19 humana en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.**



## Limitaciones Generales

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

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

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

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

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

## Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

## Correcciones A La Publicación Anterior

Composición del reactivo, Concentración de proteína total, Recomendaciones de uso, Advertencias y precauciones, Resultados esperados.

## Fecha De Publicación

05 de octubre de 2018

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal Líquido de Ratinho CD19

## Código Do Produto: NCL-L-CD19-163

### Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-CD19-163 foi concebido para efetuar a identificação qualitativa das moléculas CD19 humanas por microscopia ótica em cortes de parafina. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

### Princípio Do Procedimento

As técnicas de coloração 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

BT51E

### Imunogénio

Proteína de fusão procariótica contendo parte da região do terminal C da molécula CD19 humana.

### Especificidade

CD19 humana.

### Composição Do Reagente

NCL-L-CD19-163 é o sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo de azida de sódio como produto conservante.

### Classe De Ig

IgG2b

### Concentração Total De Proteína Total Protein

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

### Concentração De Anticorpo

Maior que ou igual a 35 mg/L, conforme determinado por ELISA. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

### Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

**Recuperação de epitopos induzida pelo calor (HIER):** Por favor, siga as instruções de utilização da Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluição sugerida:** 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta recomendação serve apenas de orientação e os utilizadores devem determinar as suas diluições óptimas de trabalho.

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

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

### Armazenamento E Estabilidade

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

### Preparação Das Amostras

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

### Avisos E Precauções

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

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

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

As amostras, antes e depois da sua fixação, bem como todos os materiais expostos às mesmas, devem ser manipulados como se tivessem a capacidade de transmitir infeções 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 tecido da amígdala.

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

## Controlo De Tecido Negativo

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

O tecido de controlo negativo recomendado é o cerebelo.

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

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

## Controlo De Reagente Negativo

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

## Tecido Do Doente

Examinar as amostras do doente coloridas com NCL-L-CD19-163 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

## Resultados Previstos

### Tecidos normais

O clone do BT51E detetou a proteína CD19 expressa nas membranas das células dendríticas foliculares e células da linhagem B, exceto nas células do plasma. A coloração foi notada nas zonas do manto e centros germinais da amígdala e linfócitos B infiltrantes nos tecidos. (Número total de casos normais = 45).

### Tecidos anormal

O clone BT51E corou 100/106 linfomas de células B grandes difusas, 12/12 linfomas linfocíticos crónicos, 9/11 linfomas foliculares, 6/7 linfomas das células do manto, 1/11 doença de Hodgkin, 1/1 linfoma linfoblástico agudo das células B, 1/1 linfoma linfoblástico agudo de células B/T primitivas e 1/1 linfoma da zona marginal. Não foi observada coloração em linfomas anaplásicos de células grandes T (0/6), linfomas angioimunoblásticos das células T (0/4), linfomas T/NK (0/3), um linfoma das células T periféricas (0/1), um linfoma das células T (0/1), tumores da tireoide (0/4), tumores pulmonares (0/4), tumores ovários (0/4), tumores hepáticos (0/4), tumores cerebrais (0/2), tumores do esófago (0/2), tumores mamários (0/2), tumores gástricos (0/2), tumores dos tecidos moles (0/2), tumores da língua (0/2), tumores metastáticos de origem desconhecida (0/2), tumores renais (0/2), tumores do colo do útero (0/2), tumores testiculares (0/2), tumores do cólon (0/2), tumores do reto (0/2), tumores da pele (0/2), um tumor da laringe (0/1) ou um tumor do timo (0/1). (Número total de casos de tumores avaliados = 209).

**O NCL-L-CD19-163 é recomendado para a deteção da proteína CD19 humana 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. 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

## Emendas Da Edição Anterior

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

## Data De Emissão

05 de Outubro de 2018

# Novocastra™ Flytande Monoklonal Musantikropp

## CD19

### Produktkod: NCL-L-CD19-163

#### **Avsedd Användning**

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-CD19-163 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av humana CD19-molekyler i paraffinerade snitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolg 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 tvåsteg. 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**

BT51E

#### **Immunogen**

Prokaryotiskt fusionsprotein innehållande en del av C-terminalregionen av den humana CD19-molekylen.

#### **Specificitet**

Human CD19.

#### **Reagensinnehåll**

NCL-L-CD19-163 är en flytande supernatant från vävnadsodling som innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

#### **Ig-klass**

IgG2b

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

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

#### **Antikropps-koncentration**

Större än eller lika med 35 mg/L fastställt genom ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

#### **Rekommendationer Vid Användning**

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

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

**Föreslagen spädning:** 1:50 i 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

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

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

#### **Förvaring Och Stabilitet**

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

#### **Preparation Av Prov**

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### **Varningar Och Försiktighetsåtgärder**

Reagenset har förberetts från supernatanten av vävnadsodlingar. Eftersom det är en biologisk produkt bör skäligen 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 färskas 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 tonsill.

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

## Negativ Vävnadskontroll

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

Rekommenderad negativ kontrollvävnad är cerebellum.

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 peroxididas (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 resultat 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-CD19-163 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 BT51E detekterade CD19-proteinet som uttrycks på membranet av follikulära dendritiska celler och celler från B-cellslinjen, utom plasmaceller. Färgning observerades i mantelzonerna och germinala centra i tonsill- och vävnadsinfiltrerande B-lymfocyter. (Totalt antal normala fall = 45).

### Onormal vävnad

Klon BT51E färgade 100/106 diffusa stora B-cellslymfom, 12/12 kroniska lymfatiska lyfom, 9/11 follikulära lyfom, 6/7 mantelcellslymfom, 1/11 Hodgkins sjukdom, 1/1 akut lymfoblastiskt B-cellslymfom, 1/1 akut primitivt lymfoblastiskt B/T-cellslymfom samt 1/1 marginalzonslymfom. Ingen färgning observerades i anaplastiska storcelliga T-cellslymfom (0/6), angioimmunoblastiska T-cellslymfom (0/4), T/NK-lymfom (0/3), ett perifert T-cellslymfom (0/1), ett T-cellslymfom (0/1), sköldkörteltumörer (0/4), lungtumörer (0/4), äggstockstumörer (0/4) levertumörer (0/4), hjärntumörer (0/2), esofagealtumörer (0/2), brösttumörer (0/2), magsäckstumörer (0/2), njukvävnadstumörer (0/2), tumörer på tunga (0/2), metastatiska tumörer av okänt ursprung (0/2), njurtumörer (0/2), livmoderhalstumörer (0/2), testikelstumörer (0/2), tumörer på kolon (0/2), tumörer i rektum (0/2), hudtumörer (0/2), en tumör på struphuvud (0/1) eller en tumör i bröst (0/1). (Totalt antal utvärderade tumörfall = 209).

**NCL-L-CD19-163 rekommenderas för detektering av humant CD19 protein i normal eller neoplastisk vävnad, 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. Övåntat antigenuttryck kan ske, speciellt i neoplasmer. Morfologisk analys och utvärdering av lämpliga kontroller måste ingå i den kliniska tolkningen av alla färgade vävnadssnitt.

## **Bibliografi - Allmän**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

## **Rättelser Av Tidigare Utgivning**

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

## **Utgivningsdatum**

05 oktober 2018

# Novocastra™ Υγρό Μονοκλωνικό Αντίσωμα Ποντικού CD19

## Κωδικός είδους: NCL-L-CD19-163

### Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

*Για in vitro διαγνωστική χρήση.*

Το NCL-L-CD19-163 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός του ανθρώπινου αντιγόνου CD19 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 ανοσοστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του 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 παθοφυσιολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

### Κλώνος

BT51E

### Ανοσογόνο

Προκαρνωτική πρωτεΐνη σύντηξης που περιέχει τμήμα της C-τερματικής περιοχής του ανθρώπινου μορίου CD19.

### Ειδικότητα

Ανθρώπινη CD19.

### Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-CD19-163 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

### Τάξη Ig

IgG2b

### Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

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

### Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 35 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

### Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοστοχημεία σε παρασκευάσματα παραφίνης.

**Επίτοπος Ανάκτηση μέσω Θερμικής Επαγωγής (HIER):** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης στο Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Προτεινόμενη διαλύση:** 1:50 επί 30 λεπτά σε 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους διαλύσεις εργασίας.

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

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

### Φύλαξη Και Σταθερότητα

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

### Παρασκευή Δείγματος

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

### Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

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

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

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

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

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



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

## Ποιοτικός Έλεγχος

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

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

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

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

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

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

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι η αμυγδαλή.

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

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

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι η παρεγκεφαλίδα.

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

Μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Ενδέχεται επίσης να παρατηρηθεί σποραδική χρώση του συνδεδετικού ιστού σε τομές από ιστούς που έχουν μονιμοποιηθεί με υπερβολική ποσότητα φορμόλης. Χρησιμοποιείτε άδεια 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 αναστοχάσης 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 χρωματόγονο υποστρώματος ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημιασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα. Εάν παρουσιαστεί ειδική χρώση στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενούς θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστηρίου

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

## Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-CD19-163. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστηρίου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, 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 BT51E ανίχνευσε την πρωτεΐνη CD19 που εκφράζεται στη μεμβράνη θυλακικών δενδρικών κυττάρων και κυττάρων της B-κυτταρικής γεινεαλογίας, με εξαίρεση τα κύτταρα του πλάσματος. Παρατηρήθηκε χρώση στις ζώνες του μανδύα και στα βασικά κέντρα της αμυγδαλής και στα Β λεμφοκύτταρα που διηθίζουν τους ιστούς. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών = 45).

### Ανώμαλη Ιστού

Με τον κλώνο BT51E παρατηρήθηκε χρώση σε 100/106 διάχυτα μεγαλοκυτταρικά λεμψώματα Β κυττάρων, 12/12 χρόνια λεμφοκυτταρικά λεμψώματα, 9/11 θυλακώδη λεμψώματα, 6/7 λεμψώματα από το κύτταρο του μανδύα, 1/11 νόσος του Hodgkin, 1/1 οξύ λεμφοβλαστικό λέμφωμα Β κυττάρων, 1/1 πρωτοπαθές οξύ λεμφοβλαστικό λέμφωμα Β/Τ κυττάρων και 1/1 λέμφωμα περιφωριτικής ζώνης. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε αναπλαστικά μεγαλοκυτταρικά λεμψώματα Τ κυττάρων (0/6), αγγειοανοπλαστικά λεμψώματα Τ κυττάρων (0/4), λεμψώματα T/NK κυττάρων (0/3), ένα T-περιφερικό λέμφωμα (0/1), ένα λέμφωμα Τ κυττάρων (0/1), όγκους του θυρεοειδούς (0/4), όγκους του πνεύμονα (0/4), όγκους των ωσθηκών (0/4), όγκους του ήπατος (0/4), όγκους του εγκεφάλου (0/2), όγκους του οισοφάγου (0/2), όγκους του μαστού (0/2), όγκους του στομάχου (0/2), όγκους μαλακών μοριών (0/2), όγκους της γλώσσας (0/2), μεταστατικούς όγκους αγγνώστου προέλευσης (0/2), όγκους των νεφρών (0/2), όγκους του τραχήλου (0/2), όγκους των ορχέων (0/2), όγκους του κόλου (0/2), όγκους του ορθού (0/2), όγκους του δέρματος (0/2), έναν όγκο του λάρυγγα (0/1) ή έναν όγκο του θύμου αδένος (0/1). (Συνολικός αριθμός περιστατικών με νεοπλασματικούς ιστούς που αξιολογήθηκαν = 209).

**Το NCL-L-CD19-163 συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης CD19 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.**

## Γενικοί Περιορισμοί

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

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

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

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστός 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 νεοπλάσματα. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρωματισμένης τομής ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων μαρτύρων.

### **Βιβλιογραφία - Γενική**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

### **Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση**

Σύνθεση αντιδραστηρίου, ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης, συστάσεις για τη χρήση, προειδοποιήσεις και προφυλάξεις, αναμενόμενα αποτελέσματα.

### **Ημερομηνία Έκδοσης**

05 Οκτωβρίου 2018

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof CD19

## Produktkode: NCL-L-CD19-163

### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-CD19-163 er beregnet til kvalitativ identifikation af human CD19 i paraffinsnit ved lysmikroskopi. Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

### Procedureprincip

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

### Klon

BT51E

### Immunogen

Et prokaryot fusionsprotein indeholdende en del af det C-terminale område af det humane CD19-molekyle.

### Specifitet

Human CD19.

### Reagenssammensætning

NCL-L-CD19-163 er en flydende vævskultursupernatant indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

### Ig-klasse

IgG2b

### Totalproteinkoncentration

Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 35 mg/L som bestemt ved ELISA. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

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

**Foreslået fortynding:** 1:50 ved 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjer er vejledende, og brugeren bør selv bestemme egne optimale brugsopløsninger.

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

### Opbevaring Og Holdbarhed

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

### Prøveklargøring

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

### Advarsler Og Forholdsregler

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

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

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

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

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

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

## Kvalitetskontrol

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

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

## Positiv Vævskontrol

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

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

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

Anbefalet positivt kontrolvæv er tonsil.

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

## Negativ Vævskontrol

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

Anbefalet negativt kontrolvæv er cerebellum.

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

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

## Negativ Reagenskontrol

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

## Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-CD19-163 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 BT51E detekterede CD19-proteinet udtrykt på membranen af follikulære dendritceller og celler af B-celle-afstamning, bortset fra plasmaceller. Farvning blev bemærket i mantle-zoner og kimcentre af tonsil og vævsinfiltrerende B-lymfocytter. (Samlet antal normale tilfælde = 45).

### Abnormt væv

Klon BT51E farvede 100/106 diffuse storcellede B-celle-lymfomer, 12/12 kroniske lymfocytiske lymfomer, 9/11 follikulære lymfomer, 6/7 mantelcelle-lymfomer, 1/11 Hodgkins sygdom, 1/1 akut lymfoblastisk B-celle-lymfom, 1/1 primitivt akut lymfoblastisk B/T-celle-lymfom og 1/1 marginalzone-lymfom. Der sås ingen farvning af anaplastiske storcellede T-celle-lymfomer (0/6), angioimmunoblastiske T-celle-lymfomer (0/4), T/NK-lymfomer (0/3), et perifert T-celle-lymfom (0/1), et T-celle-lymfom (0/1), thyreoideatumorer (0/4), lungetumorer (0/4), ovarietumorer (0/4), levertumorer (0/4), hjernetumorer (0/2), tumorer i oesophagus (0/2), brysttumorer (0/2), mavetumorer (0/2), blodlæstetumorer (0/2), tumorer i tungen (0/2), metastaserende tumorer af ukendt oprindelse (0/2), nyretumorer (0/2), tumorer i cervix (0/2), testistumorer (0/2), tumorer i colon (0/2), tumorer i rectum (0/2), hudtumorer (0/2), en tumor i larynx (0/1) eller en tumor i thymus (0/1). (Samlet antal evaluerede tumortilfælde = 209).

**NCL-L-CD19-163 anbefales til påvisning af CD19 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 irregularetter indeholdt i vævet.<sup>4</sup>

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

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

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

## **Bibliografi - Generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. *Journal of Dermatological Science*. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. *The Journal of Immunology*. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. *Seminars in Immunology*. 1998; 10:267-277.

## **Rettelser Til Tidligere Udgave**

Reagenssammensætning, Total proteinkoncentration, Anbefalinger vedrørende anvendelse, Advarsler og forholdsregler, Forventede resultater.

## **Udgivelsesdato**

05 oktober 2018

# Novocastra™ Vloeistof Muis Monoklonaal Antilichaam CD19

**Productcode: NCL-L-CD19-163**

## Beoogd Gebruik

*Voor gebruik bij in-vitro-diagnostiek.*

NCL-L-CD19-163 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie, van menselijk CD19-antigeen 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.

## Beingsel van de Procedure

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

## Kloon

BT51E

## Immunogeen

Prokaryoot fusie-eiwit, met een deel van het C-terminale deel van het menselijke CD19-molecuul.

## Specificiteit

Menselijk CD19.

## Reagentiasamenstelling

NCL-L-CD19-163 is een supernatant van de vloeibare weefselkweek die natriumazide bevat als conserveringsmiddel.

## Ig-klasse

IgG2b

## Totale Proteïneconcentratie

Total Protein

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

## Antilichaamconcentratie

Groter of gelijk aan 35 mg/L zoals bepaald door ELISA. Raadpleeg het etiket op de flacon voor de specifieke Ig-concentratie.

## Aanbevelingen over het Gebruik

Immunochemisch op paraffine coupes.

**Door hitte geïnduceerde epitooopversterking (HIER):** Volg de aanwijzingen voor gebruik in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Aangeraden verdunning:** 1:50 voor 30 minuten bij 25 °C. Dit wordt gezien als een richtlijn en gebruikers dienen hun eigen optimale werkverdunningen te bepalen.

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

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

## Opslag en Stabiliteit

Opslaan bij temperaturen van 2–8 °C. Niet bevroren. Laat het systeem direct na gebruik terugkeren naar een temperatuur van 2–8 °C. Gebruik het product niet meer na de expiratiedatum 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 bedrijfsgeïmplementeerde controles naast de volgende procedures.

De controles moeten verse autopsie-, biopsie-, of chirurgische monsters omvatten, en zo snel mogelijk formale 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 positief controleweefsel is amandel.

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 negatief controleweefsel is cerebellum.

Daarnaast leveren de verscheidenheid aan celytypen, 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 kleuringresultaten gebruik van intacte cellen. Necrotische of gedegenererde 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 gekleurde patiëntmonsters met NCL-L-CD19-163. De positieve kleuringintensiteit 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

Met kloon BT51E werd het CD19-eiwit gedetecteerd op het membraan van folliculaire dendritische cellen en cellen van B cellijnen, behalve plasmacellen. Er werd geen kleuring waargenomen in de mantelzones en kiemcentra van amandel en weefsel-infiltrerende B-lymphocyten. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 45).

### Abnormale weefsels

Kloon BT51E kleurde 100/106 diffuse grootcellige B-cellymfomen, 12/12 chronische lymfocytair lymfomen, 9/11 folliculaire lymfomen, 6/7 mantelcellymfomen, 1/11 ziekte van Hodgkin, 1/1 B-cel acuut lymfoblastair lymfoom, 1/1 voorloper B-/T-cel acuut lymfoblastair lymfoom en 1/1 marginale-zonelymfoom. Er werd geen kleuring waargenomen in grootcellige anaplastische T-cellymfomen (0/6), angio-immunoblastaire T-cellymfomen (0/4), NK- / T-cellymfomen (0/3), een perifeer T-cellymfoom (0/1), een T-cellymfoom (0/1), schildklier tumoren (0/4), longtumoren (0/4), ovariumtumoren (0/4), lever tumoren (0/4), hersentumoren (0/2), slokdarmtumoren (0/2), borst tumoren (0/2), maag tumoren (0/2), wekdelentumoren (0/2), tumoren van de tong (0/2), gemetastaseerde tumoren van onbekende oorsprong (0/2), niertumoren (0/2), baarmoederhalstumoren (0/2), testistumoren (0/2), colontumoren (0/2), rectumtumoren (0/2), huidtumoren (0/2), een tumor van de larynx (0/1) of een tumor van de thymus (0/1). (Totaal aantal beoordeelde tumorgevallen = 209).

**NCL-L-CD19-163 wordt aanbevolen voor het detecteren van humaan CD19 eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.**

## Algemene Beperkingen

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

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

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

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

## Algemene Literatuurlijst

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. *Journal of Dermatological Science*. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. *The Journal of Immunology*. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. *Seminars in Immunology*. 1998; 10:267-277.

## Aanpassingen ten opzichte van Vorige Editie

Samenstelling van het reagens, Totale eiwitconcentratie, Aanbevelingen voor gebruik, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Verwachte resultaten.

## Publicatiedatum

05 oktober 2018



# Novocastra™ Flytende Monoklonalt Antistoff Fra Mus CD19

## Produktkode: NCL-L-CD19-163

### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-CD19-163 er beregnet til kvalitativ identifikasjon av humant CD19 i parafinsnitt ved lysmikroskopi. 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 vasketriener. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet gir et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Proven 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

BT51E

### Immunogen

Et prokaryotisk fusjonsprotein som inneholder deler av den C-terminale regionen av det humane CD19-molekylet.

### Spesifisitet

Humant CD19.

### Reagenssammensetning

NCL-L-CD19-163 er en flytende vevskultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

### Ig-klasse

IgG2b

### Totalproteinkonsentrasjon

Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk totalproteinkonsentrasjon.

### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller tilsvarende 35 mg/l i henhold til ELISA. Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk Ig-konsentrasjon.

### Anbefalinger for Bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

**Varmeindusert epitoppjenvinning (HIER):** Følg bruksanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslått fortykning:** 1:50 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 vevsnett.

### Advarsler og Forholdsregler

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

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

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

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

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

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

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

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.

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

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

Anbefalt positivt kontrollvev er tonsill.

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 cerebellum.

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

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

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

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

## Negativ reagenskontroll

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

## Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-CD19-163 sist. Intensiteten av positiv farging bør vurderes i sammenheng med eventuelt uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med alle immunhistokjemiske tester, betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserte cellene/vevet. Om nødvendig kan man bruke et panel av antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

## Forventede Resultater

### Normalt Vev

Klon BT51E detekterte ekspresjon av CD19-proteinet på membranen av follikulære dentrittiske celler og celler i B-cellelinjen, bortsett fra plasmaceller. Farging ble notert i mantelsoner og germinale sentre i tonsill og vevsinfiltrerende B-lymfocytter. (Totalt antall normale tilfeller = 45).

### Abnormalt Vev

Klon BT51E farget 100/106 diffuse storcellede B-cellelymfomer, 12/12 kronisk lymfocytære lymfomer, 9/11 follikulære lymfomer, 6/7 mantelcellelymfomer, 1/11 Hodgkins sykdom, 1/1 akutt B-lymfoblastisk lymfom, 1/1 primitiv akutt B/T-lymfoblastisk lymfom og 1/1 marginalsonelymfom. Ingen farging ble observert ved anaplastiske storcellede T-cellelymfomer (0/6), angioimmunoblastiske T-cellelymfomer (0/4), T/NK-lymfomer (0/3), et perifer T-cellelymfom (0/1), et T-cellelymfom (0/1), tyreoidaeutomerer (0/4), lungetumorer (0/4), ovarietumorer (0/4), levertumorer (0/4), hjernetumorer (0/2), tumorer i spiserør (0/2), brysttumorer (0/2), magetumorer (0/2), bløtvetstumorer (0/2), tumorer i tunge (0/2), metastatiske tumorer av ukjent opprinnelse (0/2), nyretumorer (0/2), tumorer i livmorhals (0/2), testikkelumorer (0/2), tumorer i kolon (0/2), tumorer i rektum (0/2), hudtumorer (0/2), en tumor i larynx (0/1) eller en tumor i thymus (0/1). (Totalt antall evaluerte tumortilfeller = 209).

### **NCL-L-CD19-163 anbefales for deteksjon av humant CD19 protein i normalt og neoplastisk vev, i 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 fargerresultater. Vevsfarging avhenger av håndteringen og behandlingen av vevet for fargingen. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan gi artefakter, innfangning av antistoffer eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner ved fiksering eller innstøpningsmetoder eller iboende uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup>

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

Den kliniske 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 antigenekspressjon kan forekomme, spesielt i neoplasma. Den kliniske tolkningen av fargede vevssnitt må omfatte morfologiske analyser og evaluering av egnede kontroller.

## **Bibliografi – Generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

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

Reagenssammensetning, Total proteinkonsentrasjon, Anbefalinger for bruk, Advarsler og forsiktighetsregler, Forventede resultater.

## **Utgivelsesdato**

05 oktober 2018

# Novocastra™ Likit Monoklonal Fare Antikor CD19

## Ürün Kodu: NCL-L-CD19-163

### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanımı için.

NCL-L-CD19-163 parafin bölümlerindeki insan CD19'unun ışık mikroskopisi ile nitel tanımlanması için tasarlanmıştır. Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

### Prosedür Prensipleri

İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, spesifik bir antikorun antijene (primer antikor), ikincil bir antikorun primer antikora ve bir enzim kompleksinin kromojenik bir substrat ile arada yıkama adımları olacak şekilde sekansiyel olarak uygulanmasıyla antijenlerin görselleştirilmesini sağlar. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde 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

BT51E

### İmmünojen

İnsan CD19 molekülünün C terminali bölgesine karşılık gelen prokaryotik füzyon proteini.

### Spesifite

İnsan CD19.

### Reagent Kompozisyonu

NCL-L-CD19-163, prezervatif olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

### Ig Sınıfı

IgG2b

### Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özel toplam protein konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 35 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Lota özel Ig konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

### Kullanım Tavsiyeleri

Parafin seksiyonlarında immünohistokimya.

**Isı ile Endüklenen Epitop Alımı (HIER):** Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 içinde kullanımı için lütfen talimatları takip edin.

**Önerilen dilüsyon:** 1:50 25 °C'de 30 dakika için. Bu bir kılavuz olarak verilmiştir; kullanıcılar, kendilerine özel optimal çalışma dilüsyonlarını belirlemelidirler.

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

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

### Saklama ve Dayanıklılık

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

### Numune Hazırlığı

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

### Uyarılar ve Önlemler

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

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

Potansiyel tüm toksik 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 pozitif 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 bademciktir.

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

## Negatif Doku Kontrolü

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

Önerilen negatif kontrol dokusu beyinciktir.

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

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

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

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

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

## Negatif Reagent Kontrolü

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

## Hasta Dokusu

NCL-L-CD19-163 ile boyanan son hasta numunelerini inceleyin. Pozitif boyama intensitesi, negatif reagent kontrolünün herhangi bir nonspesifik arka plan boyamasının kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal test ile negatif bir sonuç, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir; antijenin test edilen hücrelerde/dokuda mevcut olmadığı anlamına gelmez. Gerekliyse yanlış negatif reaksiyonları belirlemek için bir antikor paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Klon BT51E, plazma hücreleri hariç, CD19 proteininin dendritik hücrelerin foliküler membranında ve B hücresi lineajının hücrelerinde ifade edildiğini saptar. Mantle zonlarında ve bademciklerin germinal merkezlerinde ve doku şişiren B lenfositlerinde boyama kaydedilmiştir. (Toplam normal vaka sayısı = 45).

### Abnormal Dokular

Klon BT51E 100/106 difüz büyük B hücresi lenfomalarını, 12/12 kronik lenfosit lenfomalarını, 9/11 foliküler lenfomalarını, 6/7 mantle hücre lenfomasını, 1/11 Hodgkin hastalığını, 1/1 B hücresi akut lenfoblastik lenfomayı, 1/1 primitif B/T hücresi akut lenfoblastik lenfomayı ve 1/1 marjinal zon lenfomasını boyamıştır. T-hücreli anaplastik büyük hücre lenfomalarında (0/6), anjiyoimmünoblastik T-hücreli lenfomalarda (0/4), T/NK lenfomalarında (0/3), periferel T-hücreli lenfomalarda (0/1), T-hücreli lenfomalarda (0/1), tiroid tümörlerinde (0/4), akciğer tümörlerinde (0/4), yumurtalık tümörlerinde (0/4), karaciğer tümörlerinde (0/4), beyin tümörlerinde (0/2), özofageal tümörlerde (0/2), meme tümörlerinde (0/2), gastrik tümörlerde (0/2), yumuşak doku tümörlerinde (0/2), dil tümörlerinde (0/2), kökeni bilinmeyen metastatik tümörlerde (0/2), böbrek tümörlerinde (0/2), servikal tümörlerde (0/2), testiküler tümörlerde (0/2), kolon tümörlerinde (0/2), rektal tümörlerde (0/2), deri tümörlerinde (0/2), larinks tümörlerinde (0/1) ve timus tümöründe (0/1) boyama gözlemlenmemiştir. (Değerlendirilen toplam tümör vakası sayısı = 209).

**NCL-L-CD19-163 immünojenik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak normal ve neoplastik dokularda insan CD19 proteininin 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 inkomplet karşıt boya, sonuçların doğru yorumlanmasına engel olabilir.

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

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

## **Kaynakça - Genel**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

## **Önceki Baskıya Göre Değişiklikler**

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

## **Yayın tarihi**

05 Ekim 2018

# Течно мише моноклонално антитяло Novocastra™ CD19

## Код на продукта: NCL-L-CD19-163

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-CD19-163 е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на човешки CD19 в парафинови срези. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

### Принцип на процедурата

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

### Клонинг

BT51E

### Имуноген

Прокариотен фузионен протеин, съдържащ част от C-терминалния регион на молекулата човешки CD19.

### Специфичност

Човешки CD19.

### Състав на реагента

NCL-L-CD19-163 е течен супернатант от тъканна култура, съдържащ натриев азид като консервант.

### Имуноглобулинов клас

IgG2b

### Концентрация на общ протеин

Total Protein

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

### Концентрация на антитела

По-висока или равна на 35 mg/L, както е определено от ELISA. Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата концентрация на имуноглобулин.

### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

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

**Предложение за разреждане:** 1:50 за 30 минути при 25°C. Това е дадено като указание, като потребителите трябва сами да определят техни собствени оптимални работни разреждания.

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

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

### Съхранение и стабилност

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

### Подготовка на спесимени

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

### Предупреждения и предпазни мерки

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

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

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

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

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

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

### Качествен контрол

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

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

### Позитивна тъканна контрола

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

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

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

Препоръчителната позитивна тъканна контрола е сливица.

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

### Негативна тъканна контрола

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

Препоръчителната тъкан за негативна контрола е малкият мозък.

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

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

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

### Негативна контрола на реагента

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

### Тъкан от пациента

Изследвайте спесимените на пациенти, оцветени последно с NCL-L-CD19-163. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализирани клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антигела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

### Очаквани резултати

#### Нормални тъкани

Клонинг ВТ51Е открива протеина CD19 експресиран върху мембраната на фоликуларните дендритни клетки и клетките от линията на В-клетките с изключение на плазмените клетки. Забелява се оцветяване в областите на мантията и зародишните центрове на сливицата и инфилтриращите в тъкани В-лимфоцити. (Общ брой на нормалните случаи = 45).

#### Абнормни тъкани

Клонинг ВТ51Е оцветява 100/106 дифузни едроклетъчни В-клетъчни лимфома, 12/12 хронични лимфоцитни лимфома, 9/11 фоликуларни лимфома, 6/7 мантелоклетъчни лимфома, 1/11 болест на Ходжкин, 1/1 В-клетъчен остър лимфобластен лимфом, 1/1 примитивен ВТ-клетъчен остър лимфобластен лимфом и 1/1 лимфом на маргинална зона. Не се наблюдава оцветяване в анапластични едроклетъчни лимфоми на Т-клетките (0/6), ангиоимунобластни Т-клетъчни лимфоми (0/4), лимфоми на Т/NK клетките (0/3), периферен Т-клетъчен лимфом (0/1), Т-клетъчен лимфом (0/1), тумори на щитовидната жлеза (0/4), белодробни тумори (0/4), тумори на яйчиците (0/4), тумори на черния дроб (0/4), мозъчни тумори (0/2), тумори на хранопровода (0/2), тумори на гърдата (0/2), тумори на стомаха (0/2), тумори на меките тъкани (0/2), тумори на езика (0/2), метастатични тумори с неизвестен произход (0/2), бъбречни тумори (0/2), тумори на цервикса (0/2), тумори на тестисите (0/2), тумори на ободното черво (0/2), тумори на правото черво (0/2), кожни тумори (0/2), тумор на ларинкса (0/1) или тумор на тимуса (0/1). (Общ брой на оценените случаи на тумор = 209).



**Продуктът NCL-L-CD19-163 се препоръчва за откриване на човешки протеин CD19 в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.**

### **Общи ограничения**

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

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

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

Антителата от Leica Biosystems Newcastle Ltd са предназначени за употреба, както е указано, върху замразени или вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

### **Изменения на предишно издание**

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

### **Дата на издаване**

05 Октомври 2018

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest CD19

**Termékkód: NCL-L-CD19-163**

## Alkalmazási terület

*In vitro diagnosztikai használatra.*

Az NCL-L-CD19-163 a humán CD19 fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegyesítenni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

## Az eljárás elve

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

## Klón

BT51E

## Immunogén

A humán CD19 molekula C-terminális régiójának egy szakaszát tartalmazó prokarióta eredetű fúziós fehérje.

## Specifitás

Humán CD19.

## A reagens összetétele

Az NCL-L-CD19-163 egy tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúzó.

## Ig-osztály

IgG2b

## Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

## Antitest-koncentráció

Legalább 35 mg/l ELISA módszerrel meghatározva. A sarzsspecifikus Ig-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

## Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémia paraffinos metszeteken.

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

**Javasolt hígítás:** 1:50, 30 percen át, 25 °C-on. Az adatok csak útmutatásul szolgálnak, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkadadataikat.

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

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

## Tárolás és stabilitás

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

## A minták előkészítése

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

## Figyelmeztetések és óvintézkedések

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

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

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

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

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

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

## Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában alkalmazott szövetfeldolgozási és technikai eljárások eltérései jelentős különbséget okozhatnak az eredményekben, ami az alábbi eljárásokon túl belső kontrollok rendszeres futtatását teszi szükségessé. Kontrollként friss boncolási/biopsziás/sébészeti mintákat kell használni, amelyeket a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formálisan fixálni, feldolgozni és paraffiniaszba ágyazni.

## Pozitív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

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

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

A javasolt pozitív kontrollszövet a tonsilla.

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

## Negatív szövetkontroll

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

A javasolt negatív kontrollszövet a kisagy.

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

Ha van nem specifikus festődés, az rendszerint diffúz megjelenésű. A formálisan túlfixált szövetekből származó metszeteknél a kötőszövet szórányos festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejteket használjon. A nekrotizált vagy degenerálódtól sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> A fehérjék vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Okozhatják ezt olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (eritrociták), endogén peroxidáz (citokrórn C), illetve endogén biotin (pl. máj, mell, agy, vese), az alkalmazott immunmegfestés típusától függően. Az endogén enzim aktivitásának vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimmolekulákkal (avidin-biotin, streptavidin, jelölt polimer) és szubsztrát–kromogénnel. Ha a negatív szövetkontroll specifikus festődést mutat, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív reagenskontroll

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

## Betegszövet

Az NCL-L-CD19-163 reagenssel festett betegmintákat vizsgálja meg utolsóként. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagenskontroll esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje. Mint minden immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtekben/szövetben. Szükség esetén az álnegatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

## Várható eredmények

### Normál szövetek

A BT51E klón kimutatta a CD19 fehérjét, amely a follikuláris dendritikus sejtek membránján és a B-sejtvonal sejteiben expresszálódik, a plazmasejtek kivételével. Festődés volt megfigyelhető továbbá a mandula köpenyzónájában és csírákötőpontjaiban, valamint a szövetbe infiltráló B-limfocitákban. (Normál esetek összesített száma = 45).

### Kóros szövetek

A BT51E klón festődést mutatott az alábbiakban: 100/106 diffúz nagy B-sejtes limfóma, 12/12 krónikus limfocitás limfóma, 9/11 follikuláris limfóma, 6/7 köpenysejtes limfóma, 1/11 Hodgkin-limfóma, 1/1 B-sejtes akut limfoblasztos limfóma, 1/1 primitív B-/T-sejtes akut limfoblasztos limfóma és 1/1 margináliszóna-limfóma. Nem volt festődés megfigyelhető T-sejtes anaplasztikus nagysejtes limfómák (0/6), angioimmunoblasztos T-sejtes limfómák (0/4), T/NK-sejtes limfómák (0/3), perifériás T-sejtes limfóma (0/1), T-sejtes limfóma (0/1), pajzsmirigy-daganatok (0/4), tüdődaganatok (0/4), petefészek-daganatok (0/4), májdaganatok (0/4), agydaganatok (0/2), nyelőcső-daganatok (0/2), emlődaganatok (0/2), gyomordaganatok (0/2), légyszövet-daganatok (0/2), nyelvdaganatok (0/2), ismeretlen eredetű áttétes daganatok (0/2), vesedaganatok (0/2), méhnyaki daganatok (0/2), heredaganatok (0/2), vastagbél-daganatok (0/2), végbél-daganatok (0/2), bőrdaganatok (0/2), gégedaganat (0/1) és csecsemőmirigy-daganat (0/1) esetén. (Vizsgált tumorseitek összesített száma = 209.)

**Az NCL-L-CD19-163 a humán CD19 fehérje detektálására ajánlott egészséges és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszöveti eljárások kiegészítéseként.**

## Általános korlátozások

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

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

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

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

elvégeznie.

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

### **Bibliográfia – általános**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

### **Módosítások az előző változathoz képest**

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

### **Kiadás dátuma**

05 október 2018

# Novocastra™ Anticorp monoclonal lichid de șoarece CD19

## Cod produs: NCL-L-CD19-163

### Utilizare prevăzută

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-CD19-163 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a CD19 umane în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

### Principiul de procedură

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

### Clonă

BT51E

### Imunogen

O proteină procariotică de fuziune conținând o parte din regiunea C-terminală a moleculei CD19 umane.

### Specificitate

CD19 uman.

### Compoziția reactivului

NCL-L-CD19-163 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

### Clasa Ig

IgG2b

### Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

### Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 35 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

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

**Diluție sugerată:** 1:50 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:** Respectați instrucțiunile de utilizare din Novolink™ Polymer Detection Systems. Pentru informații suplimentare despre produs sau asistență, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

### Depozitare și stabilitate

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

### Pregătirea specimenului

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

### Avertismente și precauții

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

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

Consultați reglementările naționale sau locale pentru informații privind eliminarea tuturor componentelor potențial toxice. Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manevrate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate. Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul reactivilor și specimenelor cu pielea și mucoasele. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice. Timpii sau temperaturile de incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificări trebuie validate de către utilizator.

## Controlul calității

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

### Țesutul de control pozitiv

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

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

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

Țesutul de control pozitiv recomandat este de amigdale.

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

### Țesutul de control negativ

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

Țesutul de control negativ recomandat este creierul.

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

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are, de obicei, un aspect difuz. Colorația sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată, de asemenea, în secțiuni de țesuturi fixate în mod excesiv în formalină. Folosiți celule intacte pentru interpretarea rezultatelor de colorare. Celulele necrotice sau degenerare 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 (citocrom 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 țesuturile suplimentare de la pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatică (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

### Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ non-specific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen al pacientului pentru a evalua

colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorării specifice la situs antigenului.

### Țesutul pacientului

Examinați speciemenele pacientului colorate cu NCL-L-CD19-163 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei

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

### Rezultate așteptate

#### Țesuturi normale

Clona BT51E a detectat proteina CD19 exprimată pe membrana celulelor dendritice foliculare și a celulelor din linia de celule B, cu excepția celulelor plasmatiche. S-a observat colorare în zonele de manta și centrele germinale ale amigdalei și limfocitele B infiltrate în țesuturi. (Numărul total al cazurilor normale = 45).

#### Țesuturi anormale

Clona BT51E a colorat 100/106 limfoame difuze cu celule B mari, 12/12 limfoame limfocitare cronice, 9/11 limfoame foliculare, 6/7 limfoame cu celule de manta, 1/11 boala lui Hodgkin, 1/1 limfom limfoblastic acut cu celule B, 1/1 limfom limfoblastic acut cu celule B/T primitive și 1/1 limfom de zonă marginală. Nu a fost detectată vreo colorare în limfoame anaplastice cu celule T cu celule mari (0/6), limfoame angioimunoblastice cu celule T (0/4), limfoame T/NK (0/3), un limfom periferic cu celule T (0/1), un limfom cu celule T (0/1), tumori tiroidiene (0/4), tumori pulmonare (0/4), tumori ovariene (0/4), tumori hepatice (0/4), tumori cerebrale (0/2), tumori esofagiene (0/2), tumori mamare (0/2), tumori gastrice (0/2), tumori ale țesuturilor moi (0/2), tumori ale limbii (0/2), tumori metastatice de origine necunoscută (0/2), tumori renale (0/2), tumori de col uterin (0/2), tumori testiculare (0/2), tumori ale colonului (0/2), tumori rectale (0/2), tumori ale pielii (0/2), o tumoră a laringelui (0/1) sau o tumoră a timusului (0/1). (Numărul total al cazurilor tumorale evaluate = 209).

**NCL-L-CD19-163 este recomandat pentru detectarea proteinei umane CD19 în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochemici non-immunologici.**

### Limitări generale

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

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

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

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

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

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

### **Bibliografie - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

### **Amendamente la ediția anterioară**

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

### **Data publicării**

05 octombrie 2018

# Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ CD19

## Код продукта: NCL-L-CD19-163

### Назначение

*Для диагностики in vitro*

Препарат NCL-L-CD19-163 предназначен для качественного определения CD19 человека в парафиновых срезах методом световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

### Принцип метода

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

### Клон

BT51E

### Иммуноген

Слитый белок из прокариотических клеток, содержащий часть С-концевой области молекулы CD19 человека.

### Специфичность

Человеческие антитела CD19 (Human CD123).

### Состав реактива

NCL-L-CD19-163 является супернатантом жидкой культуры тканей, содержащим азид натрия в качестве консерванта.

### Класс иммуноглобулинов

IgG2b

### Общая концентрация белка

Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Концентрация антитела

Не менее 35 мг/л при измерении методом ИФА. Общая концентрация иммуноглобулина в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

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

**Рекомендуемое разведение:** 1:50 в течение 30 минут при 25 °С. Эти указания следует считать ориентировочными, и пользователи должны определить свои собственные параметры оптимального рабочего разведения.

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

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

### Хранение и стабильность

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

### Подготовка образцов

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

### Предупреждения и меры предосторожности

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



Этот реактив содержит азид натрия. Паспорт безопасности химической продукции предоставляется по запросу или доступен на сайте [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) В отношении утилизации любых потенциально опасных компонентов следуйте требованиям федеральных, региональных и местных нормативных документов.

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

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

## Контроль качества

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

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

## Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

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

В качестве положительного контроля рекомендуется использовать ткань миндалин.

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

## Отрицательный контроль ткани

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

В качестве отрицательного контроля рекомендуется ткань мозжечка.

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

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

## Отрицательный контроль реактива

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

## Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы взятой у пациента ткани, которые окрашены с помощью NCL-L-CD19-163, в последнюю очередь.

Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фоновое окрашивания отрицательного контроля реактива. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или ткани. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

## Ожидаемые результаты

### Нормальные ткани

Клон ВТ51Е обнаружил белок CD19 на мембране фолликулярных дендритных клеток и на клетках представляющих линию В-клеток, исключение составляют клетки плазмы. Окрашивание было обнаружено в мантийных зонах и зародышевых центрах миндалин и инфильтрирующих В-лимфоцитах. (Общее число образцов неизмененных тканей, которые были исследованы = 45.)

### Патологически измененные ткани

Клон ВТ51Е окрасил в 100/106 случаев диффузной крупной В-лимфоцитарной лимфомы, 12/12 случаев хронической лимфоцитарной лимфомы, 9/11 случаев фолликулярной лимфомы, 6/7 случаев лимфомы клеток мантийной зоны, 1/11 случаев лимфомы Ходжкина, 1/1 случая острой лимфобластной В-лимфоцитарной лимфомы, 1/1 случая острой лимфобластной лимфомы из примитивных ВТ-лимфоцитов и 1/1 случая лимфомы из клеток маргинальной зоны. Окрашивания не наблюдалось при следующих патологических состояниях: анапластическая крупноклеточная Т-лимфома (0/6), ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома (0/4), лимфома из Т/НК-клеток (0/3), лимфома периферийных Т-лимфоцитов (0/1), Т-лимфоцитарная

лимфома (0/1), опухоли щитовидной железы (0/4), опухоли легких (0/4), опухоли яичников (0/4), опухоли печени (0/4), опухоли мозга (0/2), опухоли пищевода (0/2), опухоли молочных желез (0/2), опухоли желудка (0/2), опухоли мягких тканей (0/2), опухоли языка (0/2), метастатические опухоли неизвестного происхождения (0/2), опухоли почек (0/2), опухоли шейки матки (0/2), опухоли яичек (0/2), опухоли толстой кишки (0/2), опухоли прямой кишки (0/2), опухоли кожи (0/2), опухоль гортани (0/1) и вилочковой железы (0/1). (Общее число исследованных опухолей = 209).

**NCL-L-CD19-163 рекомендуется использовать для обнаружения белка CD19 человека в здоровых и пораженных опухолью тканях в качестве дополнения к обычным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.**

### **Общие ограничения**

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

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

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

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

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

### **Литература — общая**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

### **Дополнения к предыдущему выпуску**

Состав реактивов, Суммарная концентрация белка, Рекомендации по использованию, Предупреждения и меры предосторожности, Предполагаемые результаты.

### **Дата выпуска**

05 Октябрь 2018

# Płynne mysie przeciwciała monoklonalne Novocastra™ CD19

## Kod produktu: NCL-L-CD19-163

### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Preparat NCL-L-CD19-163 jest przeznaczony do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej ludzkiego CD19 w skrawkach parafinowych. Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

### Zasady postępowania

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

### Klon

BT51E

### Immunogen

Prokariotyczne białko fuzyjne zawierające część obszaru C-końca ludzkiej cząsteczki CD19.

### Swoistość

Ludzkie CD19.

### Skład odczynnika

NCL-L-CD19-163 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zakonserwowanym azydkiem sodu.

### Klasa Ig

IgG2b

### Całkowite stężenie białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 35 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA. Stężenie Ig w danej serii podano na etykiecie fiołki.

### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

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

**Sugerowane rozcieńczenie:** 1:50 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. Aby uzyskać dalsze informacje o produkcie lub wsparcie, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, albo też odwiedzić stronę internetową Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

### Przechowywanie i trwałość

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

### Przygotowanie próbek

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

### Ostrzeżenia i środki ostrożności

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

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

Próbki, przed i po utrwaleniu oraz wszystkie materiały mające z nimi kontakt należy traktować jako potencjalnie zakaźne i usuwać przy zachowaniu odpowiednich środków ostrożności.<sup>1</sup> Nigdy nie zasysać odczynników ustami podczas pobierania pipetą oraz unikać

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

### Kontrola jakości

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

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

### Tkankowa kontrola pozytywna

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

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

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

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować migdałek.

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

### Tkankowa kontrola negatywna

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

Tkankowa kontrola negatywna powinna obejmować mózdzek.

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

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

### Negatywna kontrola odczynnika

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

### Tkanka pacjenta

Próbki pobrane od pacjenta barwione NCL-L-CD19-163 należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego niespecyficznego barwienia tła podczas negatywnej kontroli odczynnika.

Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, co jednak nie oznacza, że jest on nieobecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności do identyfikacji reakcji fałszywie negatywnych należy wykorzystać panel przeciwciał.

### Oczekiwane wyniki

#### Tkanki prawidłowe

Klon BT51E wykrył białko CD19 ulegające ekspresji na błonie foliularnych komórek dendrytycznych i komórek linii komórkowej B, z wyjątkiem komórek plazmatycznych. Barwienie stwierdzono w strefach płaszczka i zarodkowych centrach migdałków, komórek dendrytycznych i limfocytach B naciekających tkankę. (Łączna liczba prawidłowych przypadków = 45).

#### Tkanki nieprawidłowe

Klon BT51E wybarwiał 100/106 rozlanych chłoniaków z dużych limfocytów B, 12/12 przewlekłych chłoniaków limfocytowych, 9/11 chłoniaków grudkowych, 6/7 chłoniaków z komórek płaszczka, 1/11 chłoniaka Hodgkina, 1/1 ostrego chłoniaka limfoblastycznego z limfocytów B, 1/1 ostrego chłoniaka limfoblastycznego z prymitywnych limfocytów B/T i 1/1 chłoniaka strefy brzożnej. Nie stwierdzono barwienia w anaplastycznych chłoniakach z dużych limfocytów T (0/6), chłoniakach z limfocytów T angioimmunoblastycznych (0/4), chłoniakach z limfocytów T/NK (0/3), chłoniakach z obwodowych limfocytów T (0/1) chłoniaku z limfocytów T (0/1), guzach tarczycy (0/4), guzach płuc (0/4), guzach jajnika (0/4), guzach wątroby (0/4), guzach mózgu (0/2), guzach przelyku (0/2), guzach sutka (0/2), guzach żołądka (0/2), guzach tkanek miękkich (0/2), guzach języka (0/2), guzach przerzutowych nieznanego pochodzenia (0/2), guzach nerek (0/2), guzach szyjki macicy (0/2), guzach jąder (0/2), guzach okrężnicy (0/2), guzach odbytnicy (0/2), nowotworach skóry (0/2), guzach krtani (0/1) lub guzach grasicy (0/1). (Łączna liczba ocenionych przypadków raków = 209).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-CD19-163 do wykrywania ludzkiego białka CD19 w tkankach zdrowych i nowotworowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.**

## Ograniczenia ogólne

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

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

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

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

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

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. *Journal of Dermatological Science*. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. *The Journal of Immunology*. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. *Seminars in Immunology*. 1998; 10:267-277.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

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

## Data publikacji

05 października 2018

# Tekočinsko monoklonsko protitelo Novocastra™ iz miši CD19

## Koda izdelka: NCL-L-CD19-163

### Predvidena uporaba

Za *diagnostično uporabo in vitro*.

Izdelek NCL-L-CD19-163 je namenjen za kvalitativno identifikacijo humanega CD19 v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

### Načelo postopka

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

### Klon

BT51E

### Imunogen

Prokarionski fuzijski protein, ki vsebuje del C-terminalnega konca humane molekule CD19.

### Specifičnost

Človeški CD19.

### Sestava reagenta

NCL-L-CD19-163 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje natrijev azid kot konzervans.

### Razred Ig

IgG2b

### Skupna koncentracija beljakovin

Total Protein

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

### Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 35 mg/l, določena s testom ELISA. Glejte oznako na viali za koncentracijo Ig določene serije.

### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

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

**Predlagano redčenje:** 1:50 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

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

### Priprava vzorcev

Priporočeni fiksativ je 10-% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, vstavljeni v parafin.

### Opozorila in previdnostni ukrepi

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

Ta reagent vsebuje natrijev azid. Varnostni list je na voljo na zahtevo ali na naslovu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Upošteвайте zvezne, državne ali lokalne predpise za odstranjevanje morebitnih strupenih sestavin.

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

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

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

## Kontrola kakovosti

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

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

## Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

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

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

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

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo tonzil.

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

## Negativni kontrolni vzorci tkiva

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 malih možganov.

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

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

## Negativni kontrolni reagent

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

## Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-CD19-163. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa odsotnosti antigena v testiranih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite nabor protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon BT51E je zaznal izražen protein CD19 na membrani folikularnih dendritičnih celic in celic celične linije B, razen plazmatk. Obarvanje so opazili v plaščnih območjih in germinalnih središčih tonzil ter tkivo infiltrirajočih limfocitih B. (Skupno število normalnih primerov = 45).

### Nenormalna tkiva

Klon BT51E je obarval 100/106 difuznih velikoceličnih limfomov celic B, 12/12 kroničnih limfocitnih limfomov, 9/11 folikularnih limfomov, 6/7 limfomov plaščnih celic, 1/11 Hodgkinovih bolezni, 1/1 akutnega limfoblastnega limfoma celic B, 1/1 akutnega limfoblastnega limfoma primitivnih celic B/T in 1/1 limfoma obrobnih celic. Pri anaplastičnih velikoceličnih limfomih celic T (0/6), angiimunoblastnih limfomih celic T (0/4), limfomih celic T/NK (0/3), limfomu perifernih celic T (0/1), limfomu celic T (0/1), tumorjih ščitnice (0/4), tumorjih pljuč (0/4), tumorjih jajčnikov (0/4), tumorjih jeter (0/4), možganskih tumorjih (0/2), tumorjih požiralnika (0/2), tumorjih dojke (0/2), tumorjih želodca (0/2), tumorjih mehkih tkiv (0/2), tumorjih jezika (0/2), metastatskih tumorjih neznanega izvora (0/2), ledvičnih tumorjih (0/2), tumorjih materničnega vratu (0/2), tumorjih testisov (0/2), tumorjih kolona (0/2), tumorjih rektuma (0/2), kožnih tumorjih (0/2), tumorju grla (0/1) in tumorju priželjca (0/1) niso opazili nobenega obarvanja. (Skupno število ocenjenih primerov s tumorji = 209).

**Izdelek NCL-L-CD19-163 se priporoča za zaznavanje človeške beljakovine CD19 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemijskih barvil.**

## Splošne omejitve

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

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

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

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

## **Splošna literatura**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

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

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

## **Datum izdaje**

05 oktober 2018



# Novocastra™ Tekutá myší monoklonální protilátka CD19

## Kód výrobku: NCL-L-CD19-163

### Zamýšlené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-CD19-163 je určen ke kvalitativnímu stanovení lidského antigenu CD19 světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

### Princip metody

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

### Klon

BT51E

### Imunogen

Prokaryotický fúzní protein obsahující část C terminální oblasti lidské molekuly CD19.

### Specifita

Lidský CD19.

### Složení reagentie

NCL-L-CD19-163 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

### Třída Ig

IgG2b

### Koncentrace celkového proteinu

Total Protein

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

### Koncentrace protilátek

35 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA. Koncentrace imunoglobulinu (Ig) specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

### Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

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

**Doporučené ředění:** 1:50 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 pro detekci polymerů 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 Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

[Výkon této protilátky je třeba validovat, pokud se používá s jinými systémy pro ruční barvení nebo na automatických platformách](#)

### Skladování a stabilita

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

### Příprava vzorku

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

### Varování a bezpečnostní opatření

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

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

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

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

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

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

## Kontrola jakosti

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

Kontroly musí být čerstvé pitevni/biopsické/operační vzorky co nejdříve fixované formalínem, 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 tonzila.

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

## Negativní tkáňová kontrola

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

Doporučená negativní tkáňová kontrola je mozeček.

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

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

## Negativní reagenční kontrola

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

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-CD19-163. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí a v negativní reagenční kontrole. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáních přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon BT51E detekuje antigen CD19 exprimovaný na membráně folikulárních dendritických buněk a buněk B-linie, až na plazmocyty.

Barvení bylo pozorováno v plášťové zóně a zárodečných centrech tonzil a B lymfocytů infiltrujících tkáň. (Celkový počet normálních tkání = 45).

### Abnormální tkáň

Klon BT51E barvil 100/106 difúzních velkobuněčných B-lymfomů, 12/12 chronických lymfocytárních lymfomů, 9/11 folikulárních lymfomů, 6/7 lymfomů z plášťových buněk, 1/11 Hodgkinových lymfomů, 1/1 B-buněčný akutní lymfoblastický lymfom, 1/1 akutní lymfoblastický lymfom z primitivních B/T buněk a 1/1 lymfomu okrajové zóny. Nebylo pozorováno barvení anaplastických velkobuněčných T-lymfomů (0/6), angioimunoblastických T-lymfomů (0/4), T/NK-lymfomů (0/3), periferního T-lymfomu (0/1), T-lymfomu (0/1), nádorů štítné žlázy (0/4), nádorů plic (0/4), nádorů vaječníků (0/4), nádorů jater (0/4), nádorů mozku (0/2), nádorů jícnu (0/2), nádorů prsu (0/2), nádorů žaludku (0/2), nádorů měkkých tkání (0/2), nádorů jazyka (0/2), metastatických nádorů neznámého původu (0/2), nádorů ledvin (0/2), nádorů čípku (0/2), testikulárních nádorů (0/2), nádorů tlustého střeva (0/2), nádorů rekta (0/2), nádorů kůže (0/2), nádoru hrtanu (0/1) ani nádoru thymu (0/1). (Celkový počet vyšetřovaných nádorů = 209).

**NCL-L-CD19-163 se doporučuje k detekci lidského proteinu CD19 v normálních a neoplastických tkáních jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.**

## Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je víceokrový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagenzií, výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě imunohistochemického sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení.

Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití v konzervačním médiu nebo přirozených odchylek ve tkáni.<sup>4</sup>

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.

Protilátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají, jak bylo uvedeno, 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. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. *Journal of Dermatological Science*. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. *The Journal of Immunology*. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. *Seminars in Immunology*. 1998; 10:267-277.

## **Operavy předchozího vydání**

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

## **Datum vydání**

05 říjen 2018

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™ CD19

## Kód produktu: NCL-L-CD19-163

### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-CD19-163 slúži na kvalitatívnu identifikáciu ľudského CD19 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

BT51E

### Imunogén

Prokaryotický fúzny proteín obsahujúci časť oblasti C-konca ľudskej molekuly CD19.

### Špecificita

Ľudský CD19.

### Zloženie činidla

NCL-L-CD19-163 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

### Trieda Ig

IgG2b

### Celková koncentrácia proteínov

Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

### Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 35 mg/l podľa ELISA. Koncentráciu Ig špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

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

**Odporúčané riedenie:** 1 : 50 počas 30 minút pri teplote 25 °C. Táto hodnota je orientačná, používatelia si musia stanoviť svoje vlastné optimálne pracovné riedenia.

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

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

### Uskladnenie a stabilita

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

### Príprava vzorky

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

### Varovania a bezpečnostné opatrenia

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

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

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

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

## Pozitívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia. Každá súprava testových podmienok v každom cykle zafarbenia musí obsahovať jednu pozitívnu kontrolu tkanivom. Tkanivo so slabým pozitívnym farbením je pre optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.<sup>2</sup>

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je tonzila.

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

## Negatívna kontrola tkanivom

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

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu je mozoček.

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

Prípadné nešpecifické farbenie má obvykle difúzny vzhľad. V rezoch tkanív silne fixovaných 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. pseudoperoxidázou (erytrocyty), endogénnou peroxidázou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeň, prsník, mozog, oblička) v závislosti od typu imunologického farbenia. S cieľom diferencovať endogénnu enzymatickú aktivitu alebo nešpecifickú väzbu enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžete nafarbiť ďalšie vzorky tkanív pacienta výhradne substrátovým chromogénom alebo enzymatickými komplexmi (avidín-biotín, streptavidín, značený polymér), resp. substrátovým chromogénom. V prípade špecifického farbenia v negatívnej kontrole tkanivom je nutné výsledky vzoriek pacienta považovať za neplatné.

## Negatívna kontrola činidlom

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

## Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené prípravkom NCL-L-CD19-163 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného

nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly činidlom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testoch znamená negatívny výsledok, že antigén nebol detegovaný. Nepotvrzuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon BT51E detegoval proteín CD19 exprimovaný na membráne folikulárných dendritických buniek a bunkách B-bunkovej línie okrem plazmatických buniek. Zafarbenie bolo zaznamenané v plášťových zónach a zárodočných centrách tonzíl a B-lymfocytoch infiltrujúcich tkanivá. (Celkový počet normálnych prípadov = 45).

### Abnormálne tkanivá

Klon BT51E zafarbil 100/106 difúzných veľkobunkových B-lymfómov, 12/12 chronických lymfocytárných lymfómov, 9/11 folikulárných lymfómov, 6/7 lymfómov z plášťových buniek, 1/11 Hodgkinových lymfómov, 1/1 B-bunkového akútneho lymfoblastického lymfómu, 1/1 primitívneho B/T-bunkového akútneho lymfoblastického lymfómu a 1/1 lymfóm okrajovej zóny. Zlúde zafarbenie nebolo pozorované pri anaplastických veľkobunkových T-lymfómoch (0/6), angioimunoblastových T-lymfómoch (0/4), T/NK-bunkových lymfómoch (0/3), periférnom T-bunkovom lymfóme (0/1), T-bunkovom lymfóme (0/1), nádoroch štítnej žľazy (0/4), nádoroch pľúc (0/4), nádoroch vaječníkov (0/4), nádoroch pečene (0/4), nádoroch mozgu (0/2), nádoroch pažeráka (0/2), nádoroch prsníka (0/2), nádoroch žalúdka (0/2), nádoroch mäkkých tkanív (0/2), nádoroch jazyka (0/2), metastatických nádoroch neznámeho pôvodu (0/2), nádoroch obličiek (0/2), nádoroch krčka maternice (0/2), nádoroch semenníkov (0/2), nádoroch hrubého čreva (0/2), nádoroch konečníka (0/2), nádoroch kože (0/2), nádore hrtana (0/1) alebo nádore týmusu (0/1). (Celkový počet vyšetrených nádorov = 209).

**NCL-L-CD19-163 je odporúčaným prostriedkom na detekciu proteínu ľudského CD19 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok ku konvenčnej histopatológii 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, premytie, 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.

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

### **Bibliografia – všeobecne**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Fujimoto M and Sato S. B cell signalling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signalling device to regulate the balance of autoimmunity. Journal of Dermatological Science. 2007; 46:1-9.
6. Otero D, Anzelon A and Rickert R. CD19 function in early and late B cell development: I. Maintenance of follicular and marginal zone B cells requires CD19-dependent survival signals. The Journal of Immunology. 2003; 170: 73-83.
7. Fujimoto M, Poe J, Inaoki M, et al. CD19 regulates B lymphocyte responses to transmembrane signals. Seminars in Immunology. 1998; 10:267-277.

### **Úpravy predchádzajúceho vydania**

Zloženie činidla, Celková koncentrácia proteínu, Odporúčania na použitie, Varovania a bezpečnostné opatrenia, Očakávané výsledky.

### **Dátum vydania**

05 október 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