

# Novocastra™ Liquid Rabbit Polyclonal Antibody S-100 Protein

**Product Code: NCL-L-S100p**

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



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

## Instructions for Use

Please read before using this product.

### Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

### Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

### Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

### Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

### Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

### Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

### Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

### Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

### Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

### Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

### Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

### Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

### Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

### Instruțiuni de utilizare

Citiți aceste instruțiuni înainte de a utiliza produsul.

### Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

### Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

### Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

### Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

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

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

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

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo. Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.



# Novocastra™ Liquid Rabbit Polyclonal Antibody S100 Protein

## Product Code: NCL-L-S100p

### Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-S100p is intended for the qualitative identification by light microscopy of S100 protein in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

### Principle of Procedure

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

### Clone

Not applicable.

### Immunogen

S-100 isolated from cow brain.

### Specificity

The antibody reacts with cow S-100 A and B, and crossreacts strongly with human S-100 A and B.

The antibody also crossreacts with chicken, pig, kangaroo, dog, cat, monkey, mouse and rat S-100.

### Reagent Composition

NCL-L-S100p is a liquid immunoglobulin fraction purified from rabbit serum diluted in PBS with 1% BSA containing sodium azide. Traces of crossreactive antibodies have been removed by solid-phase absorption with human plasma and cow serum. Volume as indicated on vial label.

### Ig Class

Not applicable.

### Total Protein Concentration

Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

### Antibody Concentration

Not applicable.

### Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

**Epitope Retrieval:** Not recommended.

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

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

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

### Storage and Stability

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

### Specimen Preparation

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

### Warnings and Precautions

This reagent has been prepared from purified rabbit serum. As it is a biological product, reasonable care should be taken when handling it.

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

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

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

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

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

## Quality Control

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

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

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

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

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

Recommended positive control tissue is peripheral nerve in bowel.

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 muscle fibers.

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-S100p 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

NCL-L-S100p recognizes the neuroectodermal components of a variety of tissue types including brain, colon, skin, lymph node, prostate, heart, cervix, thymus, tongue, skeletal muscle, salivary gland, myometrium, pancreas, fallopian tube, esophagus, bowel, kidney, gall bladder and adrenal gland. Positive staining of Langerhans cells of the skin and large infiltrating granular lymphocytes may also be seen. Membrane staining of adipose tissue may also be present in a percentage of cases. (Total number of normal cases evaluated = 52).

### Abnormal Tissues

NCL-L-S100p stained 53/155 tumor tissues evaluated, including skin tumors (47/112, including 43/50 malignant melanoma, 1/10 sweat gland carcinomas, 1/3 malignant schwannomas, 2/2 adenoid cystic carcinomas, 0/16 squamous cell carcinomas, 0/14 basal cell carcinomas, 0/10 dermatofibrosarcomas, 0/3 metastatic adenocarcinomas, 0/1 sebaceous adenocarcinomas, 0/1 fibrosarcomas, 0/1 pleomorphic undifferentiated sarcomas and 0/1 leiomyosarcomas), thyroid papillary carcinomas (2/4), ovarian tumors (1/4), brain tumors (2/2), soft tissue tumors (1/2), liver carcinomas (0/5), lung carcinomas (0/4), squamous cell carcinomas of the esophagus (0/2), squamous cell carcinomas of the cervix (0/2), squamous cell carcinomas of the tongue (0/2), breast carcinomas (0/2), gastric adenocarcinomas (0/2), colon adenocarcinomas (0/2), rectal adenocarcinomas (0/2), renal cell carcinomas (0/2), testicular seminomas (0/2), metastatic carcinomas of unknown origin (0/2), squamous cell carcinomas of the larynx (0/1) and atypical carcinoid tumors of the thymus (0/1). (Total number of tumor cases evaluated = 155).

**NCL-L-S100p is recommended for the detection of human S-100 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. *Oncology Reports*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. *Gut*. 2004; 53:507-513.

### **Amendments to Previous Issue**

Not applicable.

### **Date of Issue**

09 November 2018

# Novocastra™ Anticorps Polyclonal de Lapin Liquide S100 Protein

## Référence du Produit: NCL-L-S100p

### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

NCL-L-S100p est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de protéine S100 sur coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

### Principe de la Procédure

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

### Clone

Non applicable.

### Immunogène

S-100 isolée du cerveau de la vache.

### Spécificité

Les anticorps réagissent avec la protéine S-100 A et B de la vache, et présentent de fortes réactions croisées avec la protéine humaine S-100 A et B. L'anticorps présente également des réactions croisées avec la protéine S-100 du poulet, du cochon, du kangourou, du chien, du chat, du singe, de la souris et du rat.

### Composition du Réactif

NCL-L-S100p est une fraction d'immunoglobulines liquide purifiées provenant du sérum de lapin dilué dans du PBS avec 1 % de BSA contenant de l'azote de sodium. Des traces d'anticorps à réactivité croisée ont été retirées par phase solide d'absorption avec le plasma humain et le sérum de vache. Volume tel qu'indiqué sur l'étiquette de l'ampoule.

### Classe d'Ig

Non applicable.

### Concentration Totale en Protéines

Total Protein

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

### Concentration en Anticorps

Non applicable.

### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Récupération des épitopes** : non recommandée.

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

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

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

### Conservation et Stabilité

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

### Préparation des Spécimens

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

### Mises en Garde et Précautions

Ce réactif a été préparé à partir de sérum de lapin purifiées. 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>

Les nerfs périphériques dans les selles constituent le tissu de contrôle positif recommandé.

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

## Tissu de Contrôle Négatif

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

Les fibres musculaires constituent le tissu de contrôle négatif recommandé.

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

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

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

## Réactif de Contrôle Négatif

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

## Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-S100p 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

NCL-L-S100p reconnaît les composants neuroectodermiques d'une variété de types de tissus, notamment le cerveau, le colon, la peau, le ganglion lymphatique, la prostate, le cœur, le col de l'utérus, le thymus, la langue, le muscle squelettique, la glande salivaire, le myomètre, le pancréas, les trompes de Fallope, l'œsophage, l'intestin, le rein, la vésicule biliaire et la glande surrénale. On peut également observer une coloration positive des cellules de Langerhans de la peau et des lymphocytes granulaires larges infiltrants. La présence d'une coloration de la membrane des tissus adipeux est aussi possible dans un certain pourcentage des cas. (Nombre total de cas normaux évalués = 52).

### Tissus anormaux

NCL-L-S100p coloré 53/155 tumeurs des tissus évaluées, notamment tumeurs de la peau (47/112, y compris 43/50 mélanome malin, 1/10 carcinome sudoripare, 1/3 schwannomes malins, 2/2 carcinomes adénoïdes kystiques, 0/16 carcinomes squameux, 0/14 carcinomes baso-cellulaires, 0/10 dermatofibrosarcomes, 0/3 adénocarcinomes métastatiques, 0/1 adénocarcinomes sébacés, 0/1 fibrosarcomes, 0/1 sarcomes indifférenciés pléomorphiques et 0/1 leiomyosarcomes), carcinomes des carcinomes papillaires (2/4), tumeurs ovariennes (1/4), tumeurs cérébrales (2/2), tumeurs des tissus mous (1/2), carcinomes du foie (0/5), carcinomes pulmonaires (0/4), carcinomes squameux de l'œsophage (0/2), carcinomes squameux du col utérin (0/2), carcinomes squameux de la langue (0/2), carcinomes de la poitrine (0/2), adénocarcinomes gastriques (0/2), adénocarcinomes du colon (0/2), adénocarcinomes rectaux (0/2), carcinomes des cellules rénales (0/2), séminomes du testicule (0/2), carcinomes métastatiques d'origine inconnue (0/2), carcinomes squameux du larynx (0/1) et tumeurs carcinoïdes atypiques du thymus (0/1). (Nombre total de cas de tumeurs évaluées = 155).

**Le NCL-L-S100p est recommandé pour la détection de la protéine S-100 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. Les anomalies à la p.53/p.21 La voie WAF1 joue un rôle significatif dans la pathogénie et la progression des tumeurs stromales gastrointestinales (GIST). *Rapports d'oncologie*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Le facteur de croissance dérivé de l'hépatome est un nouveau facteur de pronostic pour les tumeurs stromales gastrointestinales (GIST). *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. Modèles d'expression CD55 sur les tissus neuronaux intestinaux sont divergents du cerveau. *Gut*. 2004; 53:507-513.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

Non applicable.

## Date de Publication

09 novembre 2018



# Novocastra™ Anticorpo Policlonale di Coniglio Liquido S100 Protein

## Codice Del Prodotto: NCL-L-S100p

### Uso Previsto

*Per uso diagnostico in vitro.*

NCL-L-S100p è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica di proteina S100 in sezioni in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

### Principio Della Procedura

Le tecniche di colorazione immunohistochimica (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

Non applicabile.

### Immunogeno

S-100 isolata da cervello di mucca.

### Specificità

L'anticorpo reagisce con S-100 A e B di mucca, e cross-reagisce fortemente con S-100 A e B umana. L'anticorpo reagisce anche con S-100 di pollo, suino, canguro, cane, gatto, scimmia, topo e ratto.

### Composizione Del Reagente

NCL-L-S100p è una frazione immunoglobulinica liquida purificata da siero di coniglio diluito in PBS con 1% BSA contenente sodio azide. Tracce di anticorpi cross-reattivi sono stati rimossi tramite assorbimento su fase solida con plasma umano e siero di mucca. Volume come indicato sull'etichetta della fiala.

### Classe Ig

Non applicabile.

### Concentrazione Proteica Totale Total Protein

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

### Concentrazione Anticorpale

Non applicabile.

### Raccomandazioni Per L'uso

Immunohistochimica su sezioni incluse in paraffina.

**Smascheramento dell'epitopo:** Non consigliato.

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

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

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

### Conservazione E Stabilità

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

### Preparazione Del Campione Biologico

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

### Avvertenze E Precauzioni

Questo reagente è stato preparato da siero di coniglio purificato. 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 raccomandato per il controllo positivo è il nervo periferico nell'intestino.

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

### **Controllo Negativo Del Tessuto**

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

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

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

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

### **Controllo Negativo Del Reagente**

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

### **Tessuto Del Paziente**

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-S100p. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunoistochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

### **Risultati Attesi**

#### Tessuti normali

NCL-L-S100p riconosce i componenti neuroectodermici di una varietà di tessuti, inclusi cervello, colon, pelle, linfonodo, prostata, cuore, cervice, timo, lingua, muscolo scheletrico, ghiandola salivare, miometrio, pancreas, tuba di Falloppio, esofago, intestino, rene, cistifellea e ghiandola surrenale. Può inoltre essere osservata la colorazione positiva delle cellule di Langerhans della pelle e dei grandi linfociti granulari infiltranti. La colorazione della membrana del tessuto adiposo può anche essere presente in una percentuale di casi. (Numero totale di casi normali valutati = 52).

#### Abnorme dei tessuti

NCL-L-S100p ha colorato 53/155 tessuti tumorali valutati, inclusi tumori della pelle (47/112, inclusi 43/50 melanoma maligno, 1/10 carcinomi delle ghiandole sudoripare, 1/3 neurinomi maligni, 2/2 carcinomi adenoido cistici, 0/16 carcinomi a cellule squamose, 0/14 carcinomi a cellule basali, 0/10 dermatofibrosarcomi, 0/3 adenocarcinomi metastatici, 0/1 adenocarcinomi sebacei, 0/1 fibrosarcomi, 0/1 sarcomi pleomorfici indifferenziati e 0/1 leiomiomasarcomi), carcinomi papillari della tiroide (2/4), tumori ovarici (1/4), tumori del cervello (2/2), tumori dei tessuti molli (1/2), epatocarcinomi (0/5), carcinomi del polmone (0/4), carcinomi a cellule squamose dell'esofago (0/2), carcinomi a cellule squamose della cervice (0/2), carcinomi a cellule squamose della lingua (0/2), carcinomi del seno (0/2), adenocarcinomi gastrici (0/2), adenocarcinomi del colon (0/2), adenocarcinomi rettili (0/2), carcinomi a cellule renali (0/2), seminomi testicolari (0/2), carcinomi metastatici di origine sconosciuta (0/2), carcinomi a cellule squamose della laringe (0/1) e tumori carcinoidi atipici del timo (0/1). (Numero totale di casi di tumore valutati = 155).

**L'uso di NCL-L-S100p è consigliato per il rilevamento della proteina S-100 umana in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.**

## Limitazioni Generali

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

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

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

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

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

## Riferimenti Bibliografici Di Base

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

## Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

Non applicabile.

## Data Di Pubblicazione

09 novembre 2018

# Novocastra™ Flüssiger Polyklonalem Kaninchen-Antikörper S100 Protein Produkt-Nr.: NCL-L-S100p

## Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-S100p ist für den qualitativen Nachweis von S100-Protein in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie vorgesehen. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

## Verfahrensgrundlage

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

## Klon

Keine Angaben.

## Immunogen

S-100 extrahiert aus Rinderhirn.

## Spezifität

Der Antikörper reagiert mit S-100 A und B vom Rind, und kreuzreagiert intensiv mit humanem S-100 A und B. Der Antikörper kreuzreagiert außerdem mit S-100 von Huhn, Schwein, Känguru, Hund, Katze, Maus und Ratte.

## Reagenzzusammensetzung

NCL-L-S100p ist eine aus Kaninchenserum aufgereinigte flüssige Immunglobulin-Fraktion verdünnt in PBS mit 1% BSA, das Natriumazid enthält. Spuren kreuzreaktiver Antikörper wurden mittels Festphasen-Absorption mit Humanplasma und Rinderserum entfernt. Volumen wie auf dem Flaschenetikett angegeben.

## Ig-Klasse

Keine Angaben.

## Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

## Antikörperkonzentration

Nicht anwendbar.

## Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten

**Epitopdemaskierung:** Nicht empfohlen.

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

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

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

## Lagerung und Stabilität

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

## Probenvorbereitung

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

## Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

Dieses Reagenz wurde aus gereinigtem Kaninchenserum vorbereitet worden. Das Reagenz ist ein biologisches Produkt und sollte mit entsprechender Vorsicht gehandhabt werden.

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

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

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

### **Qualitätskontrolle**

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

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

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Als positive Gewebekontrolle werden periphere Nerven im Darm empfohlen.

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

### **Negative Gewebekontrolle**

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

Für die negative Gewebekontrolle werden Muskelfasern 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-S100p gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbeintensität 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

NCL-L-S100p erkennt die neuroektodermalen Komponenten einer Reihe von Gewebetypen, einschließlich Hirn, Kolon, Haut, Lymphknoten, Prostata, Herz, Zervix, Thymus, Zunge, Skelettmuskel, Speicheldrüsen, Myometrium, Pankreas, Eileiter, Ösophagus, Darm, Nieren, Gallenblase und Nebennieren. Außerdem kann auch positive Färbung von Langerhans-Zellen der Haut und infiltrierenden granulären Lymphozyten auftreten. In einem Teil der Fälle ist weiterhin Membranfärbung im Fettgewebe erkennbar. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeproben = 52).

#### Anomale Gewebe

NCL-L-S100p färbte 53/155 untersuchten Tumorgeweben, einschließlich Tumoren der Haut (47/112, einschließlich 43/50 malignen Melanomen, 1/10 Schweißdrüsenkarzinomen, 1/3 malignen Melanomen, 2/2 adenoid-zystischen Karzinomen, 0/16 Plattenepithelkarzinomen, 0/14 Basalzellkarzinomen, 0/10 Dermatofibrosarkomen, 0/3 metastatischen Adenokarzinomen, 0/1 Adenokarzinom der Talgdrüsen, 0/1 Fibrosarkom, 0/1 pleomorphen undifferenzierten Sarkom und 0/1 Leiomyosarkom), papilläre Schilddrüsenkarzinome (2/4), Ovarialtumore (1/4), Hirntumore (2/2), Weichteiltumore (1/2), Leberkarzinome (0/5), Lungenkarzinome (0/4), Plattenzellkarzinome von Ösophagus (0/2), Zervix (0/2) und Zunge (0/2), Mammakarzinome (0/2), Adenokarzinome von Magen (0/2), Kolon (0/2) und Rektum (0/2), Nierenzellkarzinome (0/2), Seminome der Hoden (0/2), metastatische Karzinome unbekannter Ätiologie (0/2), Plattenepithelkarzinome des Kehlkopfes (0/1) und atypische karzinoide Tumore des Thymus (0/1). (Anzahl der insgesamt untersuchten Proben von Tumorgewebe = 155).

**NCL-L-S100p wird für den Nachweis von S-100-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, 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

## Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

Keine Angaben.

## Ausgabedatum

09 November 2018

# Novocastra™ Anticuerpo Policlonal Líquido del Conejo S100 Protein Código De Producto: NCL-L-S100p

## Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-S100p está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de proteína S100. 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

No procede.

## Inmunógeno

S-100 aislado del cerebro de la vaca.

## Especificidad

El anticuerpo reacciona con S-100 A y B de vaca, y presenta una fuerte reacción cruzada con S-100 A y B humana. El anticuerpo también presenta reacción cruzada con S-100 de gallina, cerdo, canguro, perro, gato, mono, ratón y rata.

## Composición Del Reactivo

NCL-L-S100p es una fracción líquida de inmunoglobulina de conejo, purificada a partir de suero de conejo diluido en PBS con un 1% de BSA que contiene ácido sódico. Se han eliminado las trazas de anticuerpos de reacción cruzada mediante la absorción en fase sólida con plasma humano y suero de vaca. Volumen según lo indicado en la etiqueta.

## Clase de Ig

No procede.

## Concentración Total De Proteína Total Protein

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

## Concentración De Anticuerpo

No procede.

## Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

**Recuperación del epítipo:** No recomendado.

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

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

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

## Almacenamiento Y Estabilidad

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

## Preparación De Las Muestras

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

## Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir de suero de conejo purificado. 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 nervio periférico en el intestino.

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 son las fibras musculares.

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-S100p 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

NCL-L-S100p reconoce los componentes neuroectodérmicos de diversos tipos de tejidos, que incluyen el cerebro, el colon, la piel, en nódulo linfático, la próstata, el corazón, el cérvix, el timo, la lengua, el músculo esquelético, la glándula salival, el miometrio, el páncreas, el tubo de falopio, el esófago, el intestino, el riñón, la vesícula biliar y la glándula adrenal. También es posible que se observe tinción positiva de células de Langerhans de la piel y de linfocitos granulares infiltrantes grandes. En un porcentaje de los casos, también puede estar presente la tinción de membranas de tejido adiposo. (Número total de casos normales evaluados = 52).

### Anormal del tejido

NCL-L-S100p tiñó 53/155 tejidos de tumor evaluados, incluyendo tumores de piel (47/112, incluyendo 43/50 melanoma maligno, 1/10 carcinomas de la glándula sudorípara, 1/3 schwannomas malignos, 2/2 carcinomas císticos adenoides, 0/16 carcinomas de células escamosas, 0/14 carcinomas de células basales, 0/10 dermatofibrosarcomas, 0/3 adenocarcinomas metastásicos, 0/1 adenocarcinomas sebáceos, 0/1 fibrosarcomas, 0/1 sarcomas pleomórficos indiferenciados y 0/1 leiomiomas), carcinomas papilares tiroideos (2/4), tumores en los ovarios (1/4), tumores cerebrales (2/2), tumores de los tejidos blandos (1/2), carcinomas hepáticos (0/5), carcinomas pulmonares (0/4), carcinomas de células escamosas del esófago (0/2), carcinomas de células escamosas del cérvix (0/2), carcinomas de células escamosas de la lengua (0/2), carcinomas de mama (0/2), adenocarcinomas gástricos (0/2), adenocarcinomas del colon (0/2), adenocarcinomas rectales (0/2), carcinomas de células renales (0/2), seminomas testiculares (0/2), carcinomas metastásicos de origen desconocido (0/2), squamous cell carcinomas de la laringe (0/1) tumores carcinoides atípicos del timo (0/1). (Número total de casos de tumor evaluados = 155).

**El NCL-L-S100p está recomendado para la detección de la proteína S-100 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. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

## Correcciones A La Publicación Anterior

No procede.

## Fecha De Publicación

09 de noviembre de 2018

# Novocastra™ Anticorpo Policlonal Líquido de Coelho S100 Protein Código Do Produto: NCL-L-S100p

## Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-S100p foi concebido para efectuar a identificação qualitativa de proteína S-100 por microscopia óptica 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

Não aplicável.

## Imunogénio

S-100 isolada de cérebro de vaca.

## Especificidade

O anticorpo reage com a proteína S-100 A e B de vaca e apresenta uma forte reacção cruzada com a proteína S-100 A e B humana. O anticorpo também apresenta uma reacção cruzada com a proteína S-100 de galinha, porco, canguru, cão, gato, macaco, rato e ratazana.

## Composição Do Reagente

O NCL-L-S100p é uma fracção líquida da imunoglobulina purificada do soro de coelho diluída em PBS com BSA 1% contendo azida de sódio. Foram removidos vestígios de anticorpos de reacção cruzada por absorção de fase sólida com plasma humano e soro de vaca. Volume tal como indicado na etiqueta da ampola.

## Classe De Ig

Não aplicável.

## Concentração Total De Proteína

Total Protein

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

## Concentração De Anticorpo

Não aplicável.

## Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

**Recuperação de epitopos:** Não recomendada.

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

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

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

## Armazenamento E Estabilidade

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

## Preparação Das Amostras

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

## Avisos E Precauções

Este reagente foi preparado a partir de soro de coelho purificado. 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 do nervo periférico nos intestinos.

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 são as fibras musculares.

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-S100p 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 NCL-L-S100p reconhece os componentes neuroectodérmicos de vários tecidos, incluindo cérebro, cólon, pele, gânglio linfático, próstata, coração, colo do útero, timo, língua, músculo esquelético, glândula salivar, miométrio, pâncreas, trompa de falópio, esófago, intestinos, rim, vesícula biliar e glândula adrenal. Também foi possível observar a coloração positiva das células de Langerhans da pele e de linfócitos grandes granulares infiltrantes. A coloração da membrana dos tecidos adiposos também pode estar presente numa percentagem de casos. (Número total de casos normais avaliados = 52).

### Tecidos anormal

O NCL-L-S100p corou 53/155 tecidos tumorais avaliados, incluindo tumores de pele (47/112, incluindo 43/50 melanomas malignos, 1/10 carcinomas das glândulas sudoríparas, 1/3 schwannomas benignos, 2/2 carcinomas adenóides císticos, 0/16 carcinomas de células escamosas, 0/14 carcinomas basocelulares, 0/10 dermatofibrosarcomas, 0/3 adenocarcinomas metastáticos, 0/1 adenocarcinomas sebáceos, 0/1 fibrosarcomas, 0/1 sarcomas pleomórficos indiferenciados e 0/1 leiomiossarcomas), carcinomas papilares da tireóide (2/4), tumores ováricos (1/4), tumores cerebrais (2/2), tumores dos tecidos moles (1/2), carcinomas hepáticos (0/5), carcinomas pulmonares (0/4), carcinomas de células escamosas do esófago (0/2), carcinomas de células escamosas do colo do útero (0/2), carcinomas de células escamosas da língua (0/2), carcinomas mamários (0/2), adenocarcinomas gástricos (0/2), adenocarcinomas do cólon (0/2), adenocarcinomas do recto (0/2), carcinomas das células renais (0/2), seminomas testiculares (0/2), carcinomas metastáticos de origem desconhecida (0/2), carcinomas de células escamosas da laringe (0/1) um tumor carcinóide atípico do timo (0/1). (Número total de casos de tumores avaliados = 155).

**O NCL-L-S100p é recomendado para a deteção da proteína S-100 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

## Emendas Da Edição Anterior

Não aplicável.

## Data De Emissão

09 de Novembro de 2018

# Novocastra™ Flytande Polyklonal Antikropp Från Kanin

## S100 Protein

### Produktkod: NCL-L-S100p

#### Avsedd Användning

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-S100p är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av S100-protein i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

#### Metodens Princip

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

#### Klon

Ej tillämpligt.

#### Immunogen

S-100 isolerad från kohjärna.

#### Specifitet

Antikroppen reagerar med ko S-100 A och B och korsreagerar starkt med humant S-100 A och B. Antikroppen korsreagerar också med kyckling, gris, känguru, hund, katt, apa, mus och råtta S-100.

#### Reagensinnehåll

NCL-L-S100p är en flytande immunoglobulinfraktion som renats från kaninserum utspätt i PBS med 1 % BSA innehållande natriumazid. Spår av korsreaktiva antikroppar har tagits bort genom fastfasabsorption med human plasma och koserum. Volym som anges som på flaskans etikett.

#### Ig-klass

Ej tillämpligt.

#### Total Proteinkoncentration Total Protein

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

#### Antikroppskoncentration

Ej tillämpligt.

#### Rekommendationer Vid Användning

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

**Epitopåtervinning:** Rekommenderas inte.

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

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

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

#### Förvaring Och Stabilitet

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

#### Preparation Av Prov

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### Varningar Och Försiktighetsåtgärder

Denna reagens har framställts från renade kaninserum. Eftersom det är en biologisk produkt bör skälig försiktighet iakttas vid hantering. Detta reagens innehåller natriumazid. Materialsäkerhetsdatablad finns att få på begäran eller från [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

Före och efter fixering bör prover och alla material som har varit utsatta för dem hanteras som om det finns risk för att de kan överföra infektioner och kasseras med iakttagande av försiktighet. Pipettera aldrig reagens 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

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

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

## Positiv Vävnads kontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

En positiv vävnads kontroll 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 perifer nerv i tarm.

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

## Negativ Vävnads kontroll

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

Rekommenderad negativ kontrollvävnad är muskelfibrer.

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

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

## Negativ Reagens kontroll

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

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-S100p sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrundsfärgning av den negativa reagens kontrollen. 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

NCL-L-S100p identifierar de neuroektodermala komponenterna i ett flertal vävnadstyper inklusive hjärna, kolon, hud, lymfkörtel, prostata, hjärta, livmoderhals, tymus, tunga, skelettmuskel, spottkörtel, myometrium, pankreas, äggledare, matstrupe, tarm, njure, galla, urinblåsa och binjure. Positiv färgning av Langerhans celler i huden och stora infiltrerande granulära lymfocyter kan också ses. Membranfärgning av fettvävnad kan också förekomma i en del av fallen. (Totalt antal utvärderade normala fall = 52).

### Onormal vävnad

NCL-L-S100p färgade 53/155 utvärderade tumörvävnader, inklusive hudtumörer (47/112, inklusive 43/50 maligna melanom, 1/10 svettkörtelkarcinom, 1/3 maligna schwannom, 2/2 adenoida cystiska karcinom, 0/16 skivepitelskarcinom, 0/14 basala cellkarcinom, 0/10 dermatofibrosarkom, 0/3 metastatiska adenokarcinom, 0/1 fettavsöndrande adenokarcinom, 0/1 fibrosarkom, 0/1 pleomorfska odifferentierade sarkom och 0/1 leiomyosarkom), papillärt karcinom från sköldkörtel (2/4), äggstockstumörer (1/4), hjärntumörer (2/2), mjukvävnadstumörer (1/2), leverkarcinom (0/5), lungkarcinom (0/4), skivepitelskarcinom från matstrupe (0/2), skivepitelskarcinom från livmoderhals (0/2), livmoderhals från tunga (0/2), bröstkarcinom (0/2), gastriska adenokarcinom (0/2), kolonadenokarcinom (0/2), rektala adenokarcinom (0/2), njurcellskarcinom (0/2), testikulära seminom (0/2), metastatiska karcinom av okänt ursprung (0/2), skivepitelskarcinom från larynx (0/1) och atypiska karcinoida tumörer från tymus (0/1). (Totalt antal utvärderade tumörfall = 155).

**NCL-L-S100p rekommenderas för detektering av humant S-100-protein i normala eller neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska färgstoffer.**

## Allmänna Begränsningar

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

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

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

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta

kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

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

### **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, 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 its pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. *Oncology Reports*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. *Gut*. 2004; 53:507-513.

### **Rättelser Av Tidigare Utgivning**

Ej tillämpligt.

### **Utgivningsdatum**

09 november 2018

# Novocastra™ Liquid Πολυκλωνικό Αντίσωμα Κουνελιού S100 Protein

## Κωδικός είδους: NCL-L-S100p

### Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

*Gia in vitro διαγνωστική χρήση.*

Το NCL-L-S100p προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός του πρωτεΐνης S100 σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

### Αρχή Της Διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτογενές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτογενές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με 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

Δεν υφίσταται.

### Ανοσογόνο

S-100 απομονωμένο από εγκέφαλο αγελάδας.

### Ειδικότητα

Το αντίσωμα αντιδρά με το S-100 A και B αγελάδας και παρουσιάζει διασταυρούμενη αντίδραση με το ανθρώπινο S-100 A και B. Επίσης, το αντίσωμα παρουσιάζει διασταυρούμενη αντίδραση με το S-100 όρνιθας, χοίρου, καγκουρό, σκύλου, γάτας, πιθήκου, ποτικού και αρουραίου.

### Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-S100p είναι υγρό εκκαθαμένο κλάσμα ανοσοσφαιρίνης από ορό κουνελιού, αραιωμένο σε PBS με 1% BSA που περιέχει αζίδιο του νατρίου. Τυχόν ίχνη αντισωμάτων διασταυρούμενης αντίδρασης έχουν αφαιρεθεί με απορρόφηση στερεάς φάσης με ανθρώπινο πλάσμα και ορό αγελάδας. Ο όγκος επισημαίνεται στην ετικέτα του φιαλιδίου.

### Τάξη Ig

Δεν υφίσταται.

### Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

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

### Συγκέντρωση Αντισώματος

Δεν υφίσταται.

### Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε παρασκευάσματα παραφίνης.

**Ανάκτηση επιτόπου:** Δεν συνιστάται.

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

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

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

### Φύλαξη Και Σταθερότητα

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

### Παρασκευή Δείγματος

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

### Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

Αυτό το αντιδραστήριο έχει παρασκευασθεί από καθαρισμένο ορό κουνελιού. Επειδή είναι βιολογικό προϊόν, θα πρέπει να δίνεται εύλογη προσοχή κατά το χειρισμό του.

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

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

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

S100P-L-CE

Page 23



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

## Ποιοτικός Έλεγχος

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

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

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

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

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

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

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι το περιφερικό νεύρο του εντέρου.

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

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

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι μυϊκές ίνες.

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

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστήριου

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

## Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-S100p. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τύπων μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί Ιστοί

Το NCL-L-S100p αναγνωρίζει τα νευροξωδερμικά συστατικά μιας ποικιλίας τύπων ιστών, συμπεριλαμβανομένων του εγκεφάλου, του κόλου, του δέρματος, του λεμφαδένου, του προστάτη, της καρδιάς, του τραχήλου, του θύμου αδένου, της γλώσσας, του σκελετικού μύου, του σιελόγόνου αδένου, του μωμιοτηρίου, του παγκρέατος, της σάλπιγγας, του οισοφάγου, του εντέρου, του νεφρού, της χολής και του επινεφριδίου. Ενδέχεται επίσης να παρατηρηθεί θετική χρώση κυττάρων του Langerhans του δέρματος και μεγάλων διηθητικών κοκκιδίων λεμφοκυττάρων. Σε ένα ποσοστό των περιπτώσεων ενδέχεται επίσης να υπάρχει χρώση μεμβρανών του λιπώδους ιστού. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 52).

### Ανώμαλη Ιστού

Με το NCL-L-S100p χρωματίστηκαν 53/155 μη φυσιολογικοί ιστοί που αξιολογήθηκαν, συμπεριλαμβανομένων όγκων του δέρματος (47/112, μεταξύ των οποίων 43/50 κακοήγη μελανώματα, 1/10 καρκινώματα του ιδρωτοποιού αδένου, 1/3 κακοήγη σβανώματα, 2/2 αδενοκαρκινώματα καρκινώματα, 0/16 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα, 0/14 βασικοκυτταρικά καρκινώματα, 0/10 δερματοϊνοσάρκωματα, 0/3 μεταστατικά αδενοκαρκινώματα, 0/1 αδενοκαρκινώματα σημηματογόνου αδένου, 0/1 αναπλαστικά αδιαφοροποίητα σαρκώματα και 0/1 λειομυοσαρκώματα), θηλωδών καρκινωμάτων του θυρεοειδούς (2/4), όγκων των ωοθηκών (1/4), όγκων του εγκεφάλου (2/2), όγκων μαλακών ιστών (1/2), ηπατικών καρκινωμάτων (0/5), καρκινωμάτων του πνεύμονα (0/4), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων του οισοφάγου (0/2), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων του τραχήλου (0/2), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων της γλώσσας (0/2), καρκινωμάτων του μαστού (0/2), αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου (0/2), αδενοκαρκινωμάτων του κόλου (0/2), αδενοκαρκινωμάτων του ορθού (0/2), νεφροκυτταρικών καρκινωμάτων (0/2), σεμινωμάτων των όρχεων (0/2), μεταστατικών καρκινωμάτων αγνώστου προέλευσης (0/2), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων του λάρυγγα (0/1) και άτυπων καρκινοειδών όγκων του θύμου αδένου (0/1). (Συνολικός αριθμός περιστατικών με νεοπλασματικούς ιστούς που αξιολογήθηκαν = 155).

**Το NCL-L-S100p συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης S-100 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.**

## Γενικοί Περιορισμοί Η

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

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

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

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

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

## Βιβλιογραφία - Γενική

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. *Oncology Reports*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlman HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. *Gut*. 2004; 53:507-513.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Δεν υφίσταται.

## Ημερομηνία Έκδοσης

09 Νοεμβρίου 2018

# Novocastra™ Flydende Polyklonalt Antistof Fra Kanin S100 Protein

## Produktkode: NCL-L-S100p

### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-S100p er beregnet til kvalitativ identifikation af S100 protein 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

Ikke relevant.

### Immunogen

S-100 isoleret fra ko-hjerne.

### Specificitet

Antistoffet reagerer med S-100 A og B fra ko og krydsreagerer kraftigt med human S-100 A og B. Antistoffet krydsreagerer også med S-100 fra kylling, gris, kænguru, abe, mus og rotte.

### Reagenssammensætning

NCL-L-S100p er en flydende immunoglobulinfraktion oprenset fra kaninserum fortyndet i PBS med 1 % BSA indeholdende natriumazid. Spor af krydsreaktive antistoffer er blevet fjernet ved solid-phase absorption (SPA) med human plasma og ko-serum. Volumen som angivet på hætteglassets etiket.

### Ig-klasse

Ikke relevant.

### Totalproteinkoncentration Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

### Antistofkoncentration

Ikke relevant.

### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Epitopgenfinding:** Anbefales ikke.

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

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

### Opbevaring Og Holdbarhed

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

### Prøveklargøring

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

### Advarsler Og Forholdsregler

Dette reagens er blevet fremstillet ud fra oprenset kaninserum. 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 farvekorrel.

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 perifer nerve i tarm.

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 muskelfibre.

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 muliggøre bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet.

## Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-S100p 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

NCL-L-S100p genkender den neuroektodermale komponent i flere forskellige vævstyper, inklusive hjerne, colon, hud, lymfekirtel, prostata, hjerte, cervix, thymus, lunge, skeletmuskel, spytkirtel, myometrium, pankreas, æggeleder, esophagus, tarm, nyre, galdeblære og binyre. Der kan også ses positiv farvning af langerhanske celler i hud og store infiltrerende granulære lymfocytter. Der kan også være membranfarvning af adipøst væv til stede i en procentdel af tilfældene. (Samlet antal evaluerede normale tilfælde = 52).

### Abnormt væv

NCL-L-S100p farvede 53/155 evaluerede tumurvæv, inklusive hudtumorer (47/112, herunder 43/50 maligne melanomer, 1/10 svedkirtelkarcinomer, 1/3 maligne schwannomer, 2/2 adenoide cystiske karcinomer, 0/16 pladecellekarcinomer, 0/14 basalcellekarcinomer, 0/10 dermatofibrosarkomer, 0/3 metastaserende adenokarcinomer, 0/1 talgkirtel-adenokarcinomer, 0/1 fibrosarkomer, 0/1 pleomorfe differencierede sarkomer og 0/1 leiomyosarkomer), papillære thyroideakarcinomer (2/4), ovarietumorer (1/4), hjemeturmorer (2/2), bløddeltumorer (1/2), leverkarcinomer (0/5), lungekarcinomer (0/4), pladecellekarcinomer i esophagus (0/2), pladecellekarcinomer i cervix (0/2), pladecellekarcinomer i tungen (0/2), brystkarcinomer (0/2), gastriske adenokarcinomer (0/2), colon-adenokarcinomer (0/2), rektale adenokarcinomer (0/2), nyrecellekarcinomer (0/2), testissemioner (0/2), metastaserende karcinomer af ukendt oprindelse (0/2), pladecellekarcinomer i larynx (0/1) og atypiske carcinoide tumorer i thymus (0/1). (Samlet antal evaluerede tumortilfælde = 155).

**NCL-L-S100p anbefales til påvisning af humant S-100-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 irregularteter 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, 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. *Oncology Reports*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. *Gut*. 2004; 53:507-513.

### **Rettelser Til Tidligere Udgave**

Ikke relevant.

### **Udgivelsesdato**

09 november 2018

# Novocastra™ Vloeistof Polykloonaal Konijn Antilichaam S100 Protein

## Productcode: NCL-L-S100p

### Beoogd Gebruik

Voor gebruik bij *in-vitro*-diagnostiek.

NCL-L-S100p is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie door optische microscopie van S100 eiwit in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

### Beginsel van de Procedure

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

### Kloon

Niet van toepassing.

### Immunogeen

S-100 geïsoleerd uit koeienhersenen.

### Specificiteit

Het antilichaam reageert met S-100 A en B van koeien en heeft een sterke kruisreactiviteit met humaan S-100 A en B. Het antilichaam vertoont ook kruisreactiviteit met S-100 van kip, varken, kangoeroe, hond, kat, aap, muis en rat.

### Reagentiasamenstelling

NCL-L-S100p is een vloeibare immunoglobulinefractie opgezuiverd uit konijnenserum verdund in PBS met 1% BSA met natriumazide.

Sporen van kruisreagerende antilichamen zijn verwijderd door middel van vaste-faseabsorptie met humaan plasma en koeienserum.

Volume: zie etiket.

### Ig-klasse

Niet van toepassing.

### Totale Proteïneconcentratie Total Protein

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

### Antilichaamconcentratie

Niet van toepassing.

### Aanbevelingen over het Gebruik

Immunochemisch op paraffine coupes.

**Epitoopherstel:** Niet aanbevolen.

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

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

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

### Opslag en Stabiliteit

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

### Vorbereiding van Monsters

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

### Waarschuwingen en Voorzorgsmaatregelen

Dit reagens is bereid uit gezuiverde konijnenserum. Aangezien het biologisch product is, dient u bij het gebruik ervan voorzichtig te werk te gaan.

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

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

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

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

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

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

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

## Kwaliteitscontrole

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

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

## Positieve Weefselcontrole

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

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

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

Aanbevolen positieve weefselcontrole is perifere zenuw in darm.

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

## Negatieve Weefselcontrole

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

Aanbevolen negatieve weefselcontrole is spiervezels.

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

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

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

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

## Negatieve Reagenscontrole

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

## Patiëntweefsel

Onderzoek de gekleurde patiëntmonsters met NCL-L-S100p. De positieve kleuringsintensiteit moet worden geëvalueerd binnen de context van iedere niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Net zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent dus niet dat het antigeen afwezig was in de geanalyseerde cellen/het geanalyseerde weefsel. Gebruik een panel van antilichamen om de verkeerd-negatieve reacties te identificeren.

## Verwachte Resultaten

### Normale weefsels

NCL-L-S100p herkent de neuroectodermale componenten van verschillende weefseltypen waaronder hersenen, colon, huid, lymfeklier, prostaat, hart, cervix, thymus, tong, skeletspier, speekselklier, myometrium, pancreas, eileider, oesofagus, darm, nier, galblaas en bijnier. Positieve kleuring kan ook worden waargenomen in Langerhanscellen in de huid en grote infiltrerende granulaire lymfocyten. In een deel van de gevallen kan ook membraankleuring van vetweefsel aanwezig zijn. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 52).

### Abnormale weefsels

NCL-L-S100p kleurde 53/155 beoordeelde tumorweefsels, waaronder huidtumoren (47/112, waaronder 43/50 maligne melanomen, 1/10 zweetkliercarcinomen, 1/3 maligne schwannomen, 2/2 adenoïde cystische carcinomen, 0/16 plaveiselcelcarcinomen, 0/14 basaalcelcarcinomen, 0/10 dermatofibrosarcomen, 0/3 gemetastaseerde adenocarcinomen, 0/1 adenocarcinomen van de talgklier, 0/1 fibrosarcomen, 0/1 pleomorfe ongedifferentieerde sarcomen en 0/1 leiomyosarcomen), papillaire schildklieradenocarcinomen (2/4), ovariumtumoren (1/4), hersentumoren (2/2), wekdelentumoren (1/2), levercarcinomen (0/5), longcarcinomen (0/4),

plaveiselcelcarcinomen van de oesofagus (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de cervix (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de tong (0/2), borstcarcinomen (0/2), adenocarcinomen van de maag (0/2), adenocarcinomen van het colon (0/2), adenocarcinomen van het rectum (0/2), niercelcarcinomen (0/2), testisseminomen (0/2), gemetastaseerde carcinomen van onbekende oorsprong (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de larynx (0/1) en atypische carcinoïde tumoren van de thymus (0/1). (Totaal aantal beoordeelde tumorgevallen = 155).

**NCL-L-S100p wordt aanbevolen voor het detecteren van humaan S-100-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-objectglaasjes; en de interpretatie van de kleuringresultaten. Weefselkleuring is afhankelijk van het gebruik en de verwerking van het weefsel vóór het aanbrengen van de kleuring. Een onjuiste manier van fixeren, invriezen, ontdoeien, 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, 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlman HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

### **Aanpassingen ten opzichte van Vorige Editie**

Niet van toepassing.

### **Publicatiedatum**

09 november 2018



# Novocastra™ Flytende Polyklonalt Antistoff Fra Kanin S100 Protein

## Produktkode: NCL-L-S100p

### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-S100p skal brukes til kvalitativ identifikasjon av S100-protein 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 vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet gir et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter kontrastfarges og dekket 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

Ikke aktuelt.

### Immunogen

S-100 isolert fra kuhjerne.

### Spesifisitet

Antistoffet reagerer med S-100 A og B fra ku, og kryssreagerer sterkt med humant S-100 A og B. Antistoffet kryssreagerer også med S-100 fra kylling, gris, kenguru, hund, katt, ape, mus og rotte.

### Reagenssammensetning

NCL-L-S100p er en flytende immunoglobulinfraksjon rensed fra kaninserum fortynt i PBS med 1 % BSA inneholdende natriumazid. Spor av kryssreaktive antistoffer er blitt fjernet ved en fastfase-absorpsjon med humant plasma og bovin plasma. Volum som angitt på hetteglassetiketten.

### Ig-klasse

Ikke aktuelt.

### Totalproteinkonsentrasjon Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk totalproteinkonsentrasjon.

### Antistoffkonsentrasjon

Ikke aktuelt.

### Anbefalinger for Bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

**Epitopgjenvinning:** Ikke anbefalt.

**Foreslått fortykning:** 1:200 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

Dette reagens er fremstilt fra rensed kaninserum. Dette er et biologisk produkt som må behandles deretter.

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

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

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

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

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

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

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

### Kvalitetskontroll

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

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

### Positiv Vevskontroll

Brukes for å påvise korrekt vevspreparering og fargeteknikker.

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

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

Anbefalt positivt kontrollvev er perifer tarmnerv.

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 muskelfibre.

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 fargeresultatene. Nekrotiske eller degenererte celler kan ofte farges uspesifikt.<sup>3</sup>

Falske positive resultater kan skyldes ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. Dette kan også skyldes endogene enzymer som pseudoperoxidasidase (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 enzybinding og spesifikk immunreaktivitet kan ytterligere pasientvev eventuelt farges kun med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det skjer spesifikk farging i den negative vevskontrollen, må resultatene for pasientprøvene anses som ugyldige.

### Negativ reagenskontroll

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

### Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-S100p sist. Intensiteten av positiv farging bør vurderes i sammenheng med eventuell uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med alle immunhistokjemiske tester, betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserte cellene/vevet. Om nødvendig kan man bruke et panel av antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

### Forventede Resultater

#### Normalt Vev

NCL-L-S100p gjenkjenner de nevroeptodermale komponentene i en rekke vevstyper, inkludert hjerne, kolon, hud, lymfeknute, prostata, hjerte, cervix, thymus, tunge, skjelettmuskulatur, spyttkjertel, myometrium, pankreas, eggledere, øsofagus, tarm, nyre, galleblære og binyrer. Positiv farging av Langerhans' celler i huden og store infiltrerende granulære lymfocytter kan også ha blitt påvist. Membranfarging av fettvev kan også finnes i en prosentandel av tilfellene. (Totalt antall evaluerte normale tilfeller = 52).

#### Abnormalt Vev

NCL-L-S100p farget 53/155 tumorvev evaluert, inkludert hudtumorer (47/112, inkludert 43/50 malignt melanom, 1/10 svettekjertelkarsinomer, 1/3 maligne akustikusnevriomer, 2/2 adenoide cystiske karsinomer, 0/16 skvamøse cellekarsinomer, 0/14 basalcellekarsinomer, 0/10 dermatofibrosarkomer, 0/3 metastatiske adenokarsinomer, 0/1 sebakøse adenokarsinomer, 0/1 fibrosarkomer, 0/1 pleomorfe udifferensierte sarkomer og 0/1 leiomyosarkomer), papillære thyroideakarsinomer (2/4), ovarietumorer (1/4), hjernetumorer (2/2), bløtvevstumorer (1/2), leverkarsinomer (0/5), lungekarsinomer (0/4), skvamøse cellekarsinomer i øsofagus (0/2), skvamøse cellekarsinomer i cervix (0/2), skvamøse cellekarsinomer i tunge (0/2), brystkarsinomer (0/2), gastriske adenokarsinomer (0/2), adenokarsinomer i kolon (0/2), rektale adenokarsinomer (0/2), renale cellekarsinomer (0/2), testikulære seminomer (0/2), metastatiske karsinomer av ukjent opprinnelse (0/2), skvamøse cellekarsinomer i larynx (0/1) og atypiske karsinoide tumorer i thymus (0/1). (Totalt antall evaluerte tumortilfeller = 155).

**NCL-L-S100p anbefales for deteksjon av humant S-100-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, vevsseleksjon, -fiksering og -behandling samt preparering av IHC-objektglass og tolking av fargeresultater. Vevsfarging avhenger av håndteringen og behandlingen av vevet før fargingen. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, snittning eller kontaminering med annet vev eller væsker kan gi artefakter, innfangning av antistoffer eller falske negative resultater. Inkonsekvante resultater kan skyldes variasjoner ved fiksering eller innstøpningsmetoder eller iboende uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup>

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

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

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd skal brukes, som angitt, på enten frosne eller parafinlagrede snitt med spesifikke krav til fiksering. Uventet antigenekspresjon kan forekomme, spesielt i neoplasma. Den kliniske tolkningen av fargede vevsnett 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. *Oncology Reports*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. *Gut*. 2004; 53:507-513.

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

Ikke aktuelt.

### **Utgivelsesdato**

09 november 2018

# Novocastra™ Sıvı Tavşan Poliklonal Antikoru S100 Protein

## Ürün Kodu: NCL-L-S100p

### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanımı için.

NCL-L-S100p, parafin seksiyonlarında S100 proteini ışık mikroskopisi tarafından kalitatif tanımlama için kullanılmak üzere 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 antikoru antijene (primer antikor), ikincil bir antikoru primer antikora ve bir enzim kompleksinin kromojenik bir substrat ile arada yıkama adımları olacak şekilde sekansiyel olarak uygulanmasıyla antijenlerin görselleştirilmesini sağlar. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen 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

Uygulanamaz

### İmmünojen

S-100 inek beyninden izole edilmiştir.

### Spesifite

Antikor, inek S-100 A'ya ve B'ye tepki gösterir ve insan S-100 A'sına ve B'sine güçlü bir şekilde karşı tepki gösterir. Antikor ayrıca tavuk, domuz, kanguru, köpek, kedi, maymun, fare ve fare S-100'üne de karşı tepki gösterir.

### Reagent Kompozisyonu

NCL-L-S100p sodyum azid içeren %1 BSA'da PBS ile sulandırılmış tavşan serumundan saflaştırılmış sıvı bir immunoglobulin fraksiyonudur. Kros-reaktif antikorların izleri, insan plazması ve inek serumu ile katı fazda emilim ile alınmıştır. Hacim, şişenin üzerindeki etikette gösterildiği gibidir.

### Ig Sınıfı

Uygulanamaz.

### Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özel toplam protein konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

### Antikor Konsantrasyonu

Uygulanamaz.

### Kullanım Tavsiyeleri

Parafin seksiyonlarında immünohistokimya.

**Epitop Retrieval:** Önerilmez.

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

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

Bu 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 belirtilenler dışındaki saklama koşullarının, kullanıcı tarafından kontrol edilmesi gerekir.

### Numune Hazırlığı

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

### Uyarılar ve Önlemler

Bu reaktif tavşan serumu saflaştırılmış 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 set için dahil edilmelidir.

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

Önerilen pozitif kontrol dokusu: bağırsaktaki periferi siniridir.

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: iskelet kasıdır.

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

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

Yanlış pozitif sonuçlar, substrat reaksiyon ürünleri veya proteinlerin immünoojik 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 ortaya çıkabilir.

Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin nonspesifik bağlanmasını, 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-S100p 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

NCL-L-S100p beyin, kolon, cilt, lenf bezesi, prostat, kalp, serviks, timüs, dil, iskelet kası, tükürük bezi, miyometriyum, pankreas, dolyatağı borusu, özofagus, bağırsak, böbrek, safra kesesi ve böbrek üstü bezesi dahil çok çeşitli doku türlerinin nöro-ektodermal bileşiklerini tanımlaktadır. Ciltteki Langerhans hücrelerinin pozitif lekelenmesi ve büyük infiltratif granüler limfositler de görülebilir. Yağlı dokudaki zar lekelenmesi de örneklerin belli bir yüzdesinde mevcut olabilir. (Değerlendirilen normal örneklerin toplam sayısı = 52).

### Abnormal Dokular

Cilt tümörleri dahil değerlendirilen NCL-L-S100p lekeli 53/155 tümör dokuları (43/50 kötü huylu melanom, 1/10 ter bezi karsinomu, 13 kötü huylu schwannomalar, 2/2 adenoid sistik karsinomlar, 0/16 skuamöz hücre karsinomu, 0/14 bazal hücreli karsinom, 0/10 dermatofibrosarkom, 0/3 metastatik adenokarsinom, 0/1 sebasöz adenokarsinom, 0/1 fibrosarkom, 0/1 pleomorfik ayırt edilmemiş sarkom ve 0/1 leyomyosarkom dahil 47/112), papiller karsinomlar, ovaryen tümörler (1/2), beyin tümörleri (1/1), yumuşak doku tümörleri (1/2), karaciğer karsinomu (0/5), ciğer karsinomu (0/2), özofagustaki skuamöz hücre karsinomu (0/2), serviksteki skuamöz hücre karsinomu (0/2), dildeki skuamöz hücre karsinomu (0/2), göğüs karsinomu (0/2), gastrik adenokarsinom (0/2), kolon adenokarsinom (0/2), rektal adenokarsinom (0/2), renal hücre karsinomu (0/2), testiküler seminom (0/2), bilinmeyen nedenden meydana gelen metastatik karsinom (0/2), yemek borusundaki skuamöz hücre karsinomu (0/1), larinksteki kuamöz hücre karsinomu (0/1), ve timusteki atipik karsinoid tümörler (0/1). (Değerlendirilen toplam tümör vakası sayısı = 155).

**NCL-L-S100p, immünoojik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak normal ve neoplastik dokularda insan S-100 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 işlenmesi bağlıdır. Diğer dokularla veya akışkanlarla hatalı fikse etme, dondurma, eritme, yıkama, kurutma, ısıtma, seksiyonlama veya kontaminasyon artefakt, antikor trapping veya yanlış negatif sonuçlar oluşabilir. Doku içerisinde fikse etme ve gömme yöntemleri veya inherent aksaklıklar nedeniyle tutarsız sonuçlar ortaya çıkabilir.<sup>4</sup>

Aşırı veya inkomplet karşıt boyama, 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, belirtildiği 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 değerlendirmesini 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

### **8. Önceki Baskıya Göre Değişiklikler**

Uygulanamaz.

### **Yayım tarihi**

09 Kasım 2018

# Течно заешко поликлонално анти тяло Novocastra™ S100 Protein

## Код на продукта: NCL-L-S100p

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-S100p е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на протеин S100 в парафинови срези. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

### Принцип на процедурата

Техниките на имунохистохимично (IHC) оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно приложение на специфично анти тяло на антигена (първично анти тяло), вторично анти тяло на първичното анти тяло 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 патофизиологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

### Клонинг

Не е приложимо.

### Имуноген

S-100, изолирано от мозък на крава.

### Специфичност

Анти тялото реагира с кравешки S-100 A и B и дава силна кръстосана реакция с човешки S-100 A и B.

Анти тялото също така дава кръстосана реакция с S-100 от пиле, прасе, кенгуру, куче, котка, маймуна, мишка и плъх.

### Състав на реагента

Продуктът NCL-L-S100p е пречистена течна имуноглобулинова фракция от заешки серум, разтворена в PBS (фосфатно буферизиран физиологичен разтвор) с 1% BSA, съдържаща натриев азид. Следите от анти теля, демонстриращи кръстосана реактивност, са отстранени чрез абсорбция в твърда фаза с човешка плазма и говежди серум. Обемът е указан на етикетата на флакона.

### Имуноглобулинов клас

Не е приложимо.

### Обща концентрация на протеин Total Protein

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

### Концентрация на анти теля

Не е приложимо.

### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

**Извличане на епитоп:** Не се препоръчва.

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

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

Действието на това анти тяло 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 етикетата на флакона. Други условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя.

### Подготовка на спесимени

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

### Предупреждения и предпазни мерки

Този реагент е приготвен от пречистен заешки серум. Тъй като е биологичен продукт, необходимо е повишено внимание при работа с него.

Този реактив 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 третират като възможни преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.<sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. В случай че реактиви или спесимени влязат в контакт с чувствителни зони, да се измият с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

Свеждайте до минимум микробната контаминация на реактивите, иначе 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 тъкан за позитивна контрола е периферен нерв в червото.

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

## Негативна тъканна контрола

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

Препоръчителната тъкан за негативна контрола са мускулни фибри.

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

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

Спесимените на пациенти, оцветени с NCL-L-S100p, трябва да се изследват последни. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираният клетка/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антигела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

NCL-L-S100p разпознава невроектодермалните компоненти на редица типове тъкани, включително мозък, ободно черво, кожа, лимфни възли, простата, сърце, цервикс, тимус, език, скелетен мускул, слюнчена жлеза, миометриум, панкреас, фалопиева тръба, хранопровод, черва, бъбрек, жлъчен мехур и надбъбречна жлеза. Може също така да се наблюдава позитивно оцветяване на клетки на Лангерханс от кожата и едри инфилтриращи грануларни лимфоцити. В известен процент от случаите може също така да се наблюдава мембранно оцветяване на мастна тъкан. (Общ брой на оценените нормални случаи = 52).

### Абнормни тъкани

NCL-L-S100p оцветява 53/155 оценени туморни тъкани, включително кожни тумори (47/112, включително 43/50 злокачествени меланом, 1/10 карцинома на потната жлеза, 1/3 злокачествени шваном, 2/2 аденоидни кистозни карцинома, 0/16 плоскоклетъчни карциноми, 0/14 базалноклетъчни карциноми, 0/10 дерматофибросаркоми, 0/3 метастатични аденокарциноми, 0/1 аденокарцином на мастните жлези, 0/1 фибросарком, 0/1 плеоморфен недиференциран сарком и 0/1 лейомиосарком), папиларни карциноми на щитовидната жлеза (2/4), овариални тумори (1/4), мозъчни тумори (2/2), тумори на меките тъкани (1/2), черодробни карциноми (0/5), белодробни карциноми (0/4), плоскоклетъчни карциноми на хранопровода (0/2), плоскоклетъчни карциноми на цервикса (0/2), плоскоклетъчни карциноми на езика (0/2), карциноми на гърдата (0/2), стомашни аденокарциноми



(0/2), аденокарциноми на ободното черво (0/2), ректални аденокарциноми (0/2), бъбречноклетъчни карциноми (0/2), тестикуларни семиноми (0/2), метастатични карциноми от неизвестен произход (0/2), плоскоклетъчни карциноми на ларинкса (0/1) и атипични карциноидни тумори на тимуса (0/1). (Общ брой на оценените случаи на тумор = 155).

**Продуктът NCL-L-S100p се препоръчва за откриване на човешки протеин S-100 в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на имунохимични оцветявания.**

### **Общи ограничения**

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

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

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

Антителата от Leica Biosystems Newcastle Ltd са предназначени за употреба, както е указано, върху замразени или вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при 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, Rike F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlman HJMMA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

### **Изменения на предишно издание**

Не е приложимо.

### **Дата на издаване**

09 ноември 2018

# Novocastra™ folyékony, nyúl eredetű poliklonális antitest S100 Protein

## Termékkód: NCL-L-S100p

### Alkalmazási terület

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-S100p az S100 fehérje fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

### Az eljárás elve

Az immunhisztokémiai (immunohistochemical, IHC) megfestési technikák az antigén elleni specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest elleni másodlagos antitest és egy enzim kromogén szubsztráttal alkotott komplexének egymás után következõ 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 patofiziológiás folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok az esetek egy részében konkrét antigénhez kapcsolódnak.

### Klón

Nem alkalmazható.

### Immunogén

Szarvasmarha agyból izolált S-100.

### Specifitása

Az antitest reagál a szarvasmarha S-100 A és B fehérjével, és erős keresztreakcióba lép a humán S-100 A és B fehérjével.

Az antitest emellett keresztreakcióba lép a csirke, disznó, kenguru, kutya, macska, majom, egér és patkány S-100 fehérjével.

### A reagens összetétele

Az NCL-L-S100p nyúlserumból tisztított folyékony immunglobulin-frakció, amelyet 1% BSA-t és nátrium-azidot tartalmazó PBS-ben hígítottak. A keresztreakáló antitestek eltávolítása humán plazmafehérjékkel és szarvasmarha szérummal, szilárd fázisú abszorpcióval történt. A térfogat az üveg címkéjén van feltüntetve.

### Ig-osztály

Nem alkalmazható.

### Összfehérje-koncentráció Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

### Antitest-koncentráció

Nem alkalmazható.

### Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémia paraffinos metszeteken.

**Epitópfeltárás:** Nem javasolt.

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

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

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

### Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos 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 tisztított nyúlserumból készül. Mivel biológiai termék, kezeléskor ésszerű körültekintéssel kell eljárni.

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

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

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

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 vállalnia 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/sebézési mintákat kell használni, amelyeket a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formalinban fixálni, feldolgozni és paraffinvaszba ágyazni.

## Pozitív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos. Minden tesztelési 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 bélben található perifériás ideg.

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 az izomrost.

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

Ha van nem specifikus festődés, az rendszerint diffúz megjelenésű. A formalinban túlfixált szövetekből származó metszeteknél a kötőszövet szórányos festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejteket használjon. A nekrotizált vagy degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> A fehérvérj vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Az alkalmazott immunfestés típusától függően álpozitív eredményeket okozhatnak olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (vörösvérsejtek), endogén peroxidáz (citokrom C), illetve endogén biotin (pl. máj, emlő, agy, vese). Az endogén enzim aktivitásának vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimkomplexekkel (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-S100p 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.

## Váráható eredmények

### Normál szövetek

Az NCL-L-S100p felismeri számos szövettípust, beleértve az agy, vastagbél, bőr, nyirokcsomó, prosztata, szív, méhnyak, csecsemőmirigy, nyelv, vázizomzat, nyálmirigy, miometrium, hasnyálmirigy, petevezeték, nyelőcső, bél, vese, epehólyag és mellékvese neuroektodermális komponenseit. A bőr Langerhans-sejtjeinek és a nagy infiltráló granuláris limfociták pozitív festődése is látható lehet. A zsírszövet membránfestődése is megfigyelhető lehet az esetek bizonyos arányában. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 52).

### Kóros szövetek

Az NCL-L-S100p megfestett 53/155 kiértékelt daganatos szövetet, beleértve bőrdaganatokat (47/112, köztük 43/50 malignus melanómát, 1/10 verejtékmirigy-karcinómát, 1/3 malignus schwannómát, 2/2 adenoid cisztás karcinómát, 0/16 laphámsejtes karcinómát, 0/14 bazálsejtes karcinómát, 0/10 dermatofibrosarkómát, 0/3 áttétes adenokarcinómát, 0/1 faggyúmirigy adenokarcinómát, 0/1 fibrosarkómát, 0/1 pleomorfnem differenciált szarkómát és 0/1 leiomioidszarkómát), pajzsmirigy papilláris karcinómákat (2/4), petefészek-daganatokat (1/4), agydaganatokat (2/2), légyszövet-daganatokat (1/2), májkarcinómákat (0/5), tüdőkarcinómákat (0/4), laphámsejtes nyelőcső-karcinómákat (0/2), laphámsejtes méhnyaki karcinómákat (0/2), laphámsejtes nyelvkarinómákat (0/2), emlőkarcinómákat (0/2), gyomor-adenokarcinómákat (0/2), vastagbél-adenokarcinómákat (0/2), végbél-adenokarcinómákat (0/2), vesesejtes karcinómákat (0/2), hereszeminómákat (0/2), közelebből meg nem határozott áttétes karcinómákat (0/2), laphámsejtes gégekarcinómákat (0/1) valamint a csecsemőmirigy atipikus karcinoid daganatát (0/1). (Vizsgált tumorseetek összesített száma = 155.)

**Az NCL-L-S100p a humán S-100 fehérje detektálására ajánlott egészséges és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszöveteti eljárások kiegészítéseként.**

## Általános korlátozások

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

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

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

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

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

### **Bibliográfia – általános**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. *Oncology Reports*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. *Gut*. 2004; 53:507-513.

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

Nem alkalmazható.

### **Kiadás dátuma**

09 november 2018

# Novocastra™ Anticorp monoclonal lichid de iepure S100 Protein

## Cod produs: NCL-L-S100p

### Utilizare prevăzută

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-S100p este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei S100 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

Nu este cazul.

### Imunogen

S-100 izolat din encefal bovin.

### Specificitate

Anticorpul reacționează cu S-100 A și B bovină și reacționează încrucișat puternic cu S-100 A și B umană.

Anticorpul reacționează de asemenea încrucișat cu S-100 de găină, porc, cangur, câine, pisică, maimuță, șoarece și șobolan.

### Compoziția reactivului

NCL-L-S100p este o fracție lichidă de imunoglobulină purificată din ser de iepure diluat cu SSTF cu ASB 1% conținând azidă de sodiu. Urmele de anticorpi reactivi încrucișat au fost eliminate prin absorbție în fază solidă cu plasmă umană și ser bovin. Volum indicat pe eticheta flaconului.

### Clasa Ig

Nu este cazul.

### Concentrație proteină totală Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

### Concentrație anticorpi

Nu este cazul.

### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

**Recuperarea epitopilor:** Nu se recomandă.

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

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

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

### Depozitare și stabilitate

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

### Pregătirea specimenului

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

### Avertismente și precauții

Acest reactiv a fost preparat din ser de iepure purificat. Întrucât este un produs biologic, trebuie să se acționeze cu prudență rezonabilă la manipularea sa.

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

Consultați reglementările naționale sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurile a 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.<sup>1</sup> Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și specimenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

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

## Controlul calității

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

## Țesutul de control pozitiv

Folosit pentru a indica țesuturile pregătite corect și tehnicile de colorare adecvate. O probă de țesut de control pozitiv trebuie să fie inclusă pentru fiecare set de condiții de testare în fiecare etapă de colorare. Un țesut cu colorare pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorare pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului.<sup>2</sup>

Țesutul de control pozitiv recomandat este nervul periferic din intestin.

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

## Țesutul de control negativ

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

Țesutul de control negativ recomandat este reprezentat de fibre musculare.

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

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

## Reactivul de control negativ

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

## Țesutul pacientului

Examinați speciemenele pacientului colorate cu NCL-L-S100p 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

NCL-L-S100p recunoaște componentele neuroectodermice ale unei varietăți de tipuri de țesuturi, incluzând encefal, colon, piele, ganglion limfatic, prostată, cord, col uterin, timus, limbă, mușchi scheletic, glandă salivară, miometru, pancreas, tub falopian, esofag, intestin, rinichi, vezică biliară și glanda suprarenală. Se poate observa de asemenea colorarea pozitivă a celulelor Langerhans ale pielii și a limfocitelor granulare infiltrante mari. Poate fi de asemenea prezentă colorarea membranelor din țesutul adipos într-o proporție din cazuri. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 52).

### Țesuturi anormale

NCL-L-S100p a colorat 53/155 țesuturi tumorale evaluate, incluzând tumori ale pielii (47/112, incluzând 43/50 melanom malign, 1/10 carcinoame ale glandei sudoripare, 1/3 schwannoame maligne, 2/2 carcinoame chistice adenoide, 0/16 carcinoame cu celule scuamoase, 0/14 carcinoame cu celule bazale, 0/10 dermatofibrosarcoame, 0/3 adenocarcinoame metastatice, 0/1 adenocarcinoame sebacee, 0/1 fibrosarcoame, 0/1 sarcoame pleomorfice nediferențiate și 0/1 leiomiomasarcoame), carcinoame papilare tiroidiene (2/4), tumori ovariene (1/4), tumori cerebrale (2/2), tumori ale țesuturilor moi (1/2), carcinoame hepatice (0/5), carcinoame pulmonare (0/4), carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale limbii (0/2), carcinoame mamare (0/2), adenocarcinoame gastrice (0/2), adenocarcinoame ale colonului (0/2), adenocarcinoame rectale (0/2), carcinoame cu celule renale (0/2), seminoame testiculare (0/2), carcinoame metastatice de origine necunoscută (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale laringelui (0/1) și tumori carcinoide atipice ale timusului (0/1). (Numărul total al cazurilor tumorale evaluate = 155).

**NCL-L-S100p este recomandat pentru detectarea proteinei umane S-100 în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochimici non-immunologici.**

## Limitări generale

Imunohistochimia este un proces de diagnostic cu mai multe etape, care constă din instruirea specializată în ceea ce privește alegerea reactivilor adecvați; alegerea, fixarea și procesarea țesutului; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor de 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

### **Amendamente la ediția anterioară**

Nu este cazul.

### **Data publicării**

09 noiembrie 2018

# Жидкая форма поликлональных антител кролика Novocastra™ S100 Protein

## Код продукта: NCL-L-S100p

### Назначение

*Для диагностики in vitro*

Препарат NCL-L-S100p предназначен для качественного определения белка S100 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

Не применимо.

### Иммуноген

S-100, выделенный из мозга коровы.

### Специфичность

Антитело реагирует с S-100 A и B коровы, а также вступает в сильное перекрестное взаимодействие с S-100 A и B человека.

Более того, антитело вступает в перекрестное взаимодействие с S-100 курицы, свиньи, кенгуру, собаки, кошки, обезьяны, мыши и крысы.

### Состав реактива

NCL-L-S100p представляет собой жидкую фракцию иммуноглобулина, очищенную из сыворотки кролика и разбавленную в PBS 1 %-ным альбумином бычьей сыворотки BSA, который содержит азид натрия. Следы примесей антител, вступающих в перекрестную реакцию, были удалены из продукта методом твердофазной абсорбции с плазмой человека и коровьей сывороткой. Объем указан на этикетке виалы.

### Класс иммуноглобулинов

Не применимо.

### Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Концентрация антитела

Не применимо.

### Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

**Демаскировка эпитопа:** Не рекомендуется.

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

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

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

### Хранение и стабильность

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

### Подготовка образцов

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

### Предупреждения и меры предосторожности

Этот реактив приготовлен из очищенной сыворотки кролика. 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.

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

## Контроль качества

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

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

## Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

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

В качестве положительного контроля рекомендуется использовать периферийные нервы кишечника.

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

## Отрицательный контроль ткани

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

В качестве отрицательного контроля рекомендуется использовать мышечные волокна.

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 иммунореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно хромогенным субстратом или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и хромогенным субстратом соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном контроле ткани результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

## Отрицательный контроль реактива

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-S100p, в последнюю очередь.

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

## Ожидаемые результаты

### Нормальные ткани

NCL-L-S100p распознает нейроэктодермальные компоненты в различных типах тканей, включая мозг, толстый кишечник, кожу, лимфатические узлы, простату, сердце, шейку матки, вилочковую железу, язык, скелетные мышцы, слюнные железы, миоэпителий, поджелудочную железу, фаллопиевы трубы, пищевод, кишечник, почки, желчный пузырь и надпочечники. Также может наблюдаться положительный результат окрашивания клеток Лангерганса кожи и больших инфильтрирующих гранулярных лимфоцитов. В ряде случаев может присутствовать окрашивание жировой ткани. (Общее число исследованных нормальных тканей = 52).

### Патологически измененные ткани

NCL-L-S100p окрасил 53/155 исследованных опухолевых тканей, включая опухоли кожи (47/112, в том числе 43/50 случаев злокачественной меланомы, 1/10 случаев карциномы потовых желез, 1/3 случаев злокачественной саркомы, 2/2 случаев

аденокистозной карциномы, 0/16 плоскоклеточной карциномы, 0/14 случаев базально-клеточной карциномы, 0/10 случаев дерматофибросаркомы, 0/3 случаев метастатической аденокарциномы, 0/1 случая аденокарциномы сальных желез, 0/1 случая фибросаркомы, 0/1 случая плеоморфной недифференцированной саркомы и 0/1 случая лейомиосаркомы), папиллярную карциному щитовидной железы (2/4), опухоли яичника (1/4), опухоли мозга (2/2), опухоли мягких тканей (1/2), карциному печени (0/5), карциному легкого (0/4), плоскоклеточную карциному пищевода (0/2), плоскоклеточную карциному шейки матки (0/2), плоскоклеточную карциному языка (0/2), карциному молочной железы (0/2), аденокарциному желудка (0/2), аденокарциному толстого кишечника (0/2), аденокарциному прямой кишки (0/2), почечно-клеточную карциному (0/2), семиному яичек (0/2), метастатические карциномы неизвестного происхождения (0/2), плоскоклеточную карциному гортани (0/1) и атипичные карциноидные опухоли вилочковой железы (0/1). (Общее число исследованных опухолей = 155).

**NCL-L-S100p рекомендуется использовать для обнаружения белка S-100 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

### **Дополнения к предыдущему выпуску**

Не применимо.

### **Дата выпуска**

09 ноября 2018

# Płynne królicze przeciwciała poliklonalne Novocastra™ S100 Protein

## Kod produktu: NCL-L-S100p

### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Preparat NCL-L-S100p jest przeznaczony do jakościowej identyfikacji za pomocą mikroskopii świetlnej białka S100 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

Nie dotyczy.

### Immunogen

S-100 wyizolowane z krowiego mózgu.

### Swoistość

Przeciwciała reaguje z krowim S-100 A i B oraz silnie reaguje z ludzkimi S-100 A i B.

Przeciwciała wykazuje również reakcję krzyżową z S-100 kurczaka, świni, kangura, psa, kota, małpy, myszy i szczura.

### Skład odczynnika

NCL-L-S100p jest płynną frakcją immunoglobulin oczyszczoną z surowicy króliczej rozcieńczoną w PBS z 1% azydkiem sodu zawierającym BSA. Śladowe przeciwciała reagujących krzyżowo zostały usunięte przez absorpcję w fazie stałej przy pomocy białek osocza ludzkiego i surowicy krowiej. Objętość określona na etykiecie.

### Klasa Ig

Nie dotyczy.

### Całkowite stężenia białka Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie folki.

### Stężenie przeciwciał

Nie dotyczy.

### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

**Odmaskowywanie epitopu.** Niezalecane.

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

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

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

### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie zamrażać. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8 °C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie folki. 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

Ten odczynnik został przygotowany z oczyszczonej surowicy króliczej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas jego używania należy zachować odpowiednie środki ostrożności.

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

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

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

### **Kontrola jakości**

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

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

### **Tkankowa kontrola pozytywna**

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

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

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

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować nerwy obwodowe w jelicie.

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 włókna mięśniowe.

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

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

### **Negatywna kontrola odczynnika**

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

### **Tkanka pacjenta**

Próbki pobrane od pacjenta barwione NCL-L-S100p należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego barwienia niespecyficznego tła w negatywnej kontroli odczynnika. Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, co jednak nie oznacza, że jest on nieobecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności do identyfikacji reakcji fałszywie negatywnych należy wykorzystać panel przeciwciał.

### **Oczekiwane wyniki**

#### Tkanki prawidłowe

NCL-L-S100p rozpoznaje komponenty neuroektodermalne różnych typów tkanek, w tym mózgu, okrężnicy, skóry, węzłów chłonnych, prostaty, serca, szyjki macicy, grasicy, języka, mięśni szkieletowych, ślinianki, myometrium, trzustki, jajowodu, przelyku, jelit, nerek, pęcherzyka żółciowego i nadnerczy. Można również zaobserwować dodatnie wybarwienie komórek Langerhansa skóry i dużych naciekających limfocytów ziarnistych. W niewielkiej ilości przypadków może również wystąpić barwienie błony tkanki tłuszczowej. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 52).

#### Tkanki nieprawidłowe

NCL-L-S100p wybarwił 53/155 ocenianych tkanek nowotworowych, w tym guzy skóry (47/112, w tym 43/50 czerniaki złośliwe, 1/10 raka gruczołów potowych, 1/3 złośliwego nerwiaka osłonkowego, 2/2 raki gruczołowo-torbielowate, 0/16 raków płaskonabłonkowych, 0/14 raków podstawonabłonkowych, 0/10 włóknakiomieszków skóry, 0/3 gruczolakoraków przerzutowych, 0/1 gruczolakoraków gruczołów łojowych, 0/1 włóknakiomieszków, 0/1 niezróżnicowanych mięsaków pleomorficznych i 0/1 mięsaków gładkokomórkowych), raki brodawkowate tarczycy (2/4), guzy jajnika (1/4), guzy mózgu (2/2), guzy tkanek miękkich (1/2), raka wątroby (0/5), raka płuc (0/4), raka płaskonabłonkowego przelyku (0/2), raka płaskonabłonkowego szyjki macicy (0/2), raka płaskonabłonkowego języka (0/2), raka sutki (0/2), gruczolakoraka żołądka (0/2), gruczolakoraka okrężnica (0/2), gruczolakoraka odbytnicy (0/2), raka nerwowokomórkowego (0/2), nasieniaki jąder (0/2), raka przerzutowego nieznanego pochodzenia (0/2), raka płaskonabłonkowego krtani (0/1), atypowego raka wiadra grasicy (0/1). (Łączna liczba ocenionych przypadków raków = 155).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-S100p do wykrywania ludzkiego białka S-100 w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.**

## Ograniczenia ogólne

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

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

Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych. Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do badania skrawków zamrożonych lub zatopionych w parafinie, które utrwalono zgodnie z określonymi wymogami. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygeny, szczególnie w przypadku nowotworów. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę przeprowadzoną w ramach odpowiednich kontroli.

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. *Oncology Reports*. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Cancer*. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. *Gut*. 2004; 53:507-513.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

Nie dotyczy.

## Data publikacji

09 listopada 2018

# Tekoče kunčje poliklonsko protitelo Novocastra™ S100 Protein

## Koda izdelka: NCL-L-S100p

### Predvidena uporaba

Za *diagnostično uporabo in vitro*.

Izdelek NCL-L-S100p je namenjen za kvalitativno identifikacijo proteina S100 v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

### Načelo postopka

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

### Klon

Navedba smiselno ni potrebna.

### Imunogen

S-100, izoliran iz možganov goveda.

### Specifičnost

Protitelo reagira z govejim S-100 A in B in močno navzkrižno reagira s človeškim S-100 A in B.

Protitelo tudi navzkrižno reagira z beljakovino S-100 piščanca, svinje, kenguruja, psa, mačke, opice, miši in podgane.

### Sestava reagenta

Protitelo NCL-L-S100p je dobavljeno kot frakcija prečiščenega imunoglobulina iz kunčjega seruma, razredčenega v fiziološki raztopini s fosfatnim pufrom (PBS), z 1 % bovinega serumskega albumina (BSA) in vsebnostjo natrijevega azida. Sledi navzkrižno reagirajočih protiteleso so bile odstranjene z absorpcijo trdne faze s človeško plazmo in govejim serumom. Volumen v skladu z navedbo na etiketi viala.

### Razred Ig

Navedba smiselno ni potrebna.

### Skupna koncentracija beljakovin Total Protein

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

### Koncentracija protiteles

Navedba smiselno ni potrebna.

### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

**Pridobivanje epitopov:** ni priporočeno.

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

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

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

### Shranjevanje in stabilnost

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

### Priprava vzorcev

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

### Opozorila in previdnostni ukrepi

Ta reagent je bil izdelan iz prečiščenega kunčjega seruma. Ker je to biološki izdelek, je treba z njim ravnati z ustrežno skrbnostjo.

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

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

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

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

## Kontrola kakovosti

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

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

## Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

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

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

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

Za pozitivni kontrolni vzorec priporočamo periferni živec črevesa.

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 mišična vlakna.

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

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

## Negativni kontrolni reagent

Za oceno nespecifičnega barvanja in boljšo razlago specifičnega obarvanja na 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-S100p. 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

NCL-L-S100p prepozna nevroektodermalne komponente različnih vrst tkiva, vključno z možgani, kolonom, kožo, bezgavko, prostato, srcem, maternični vratom, priželcem, jezikom, skeletno mišico, žlezo slinavko, miometrijem, trebušno slinavko, jajcevodom, požiralnikom, ledvico, žolčnikom in nadledvično žlezo. Opazili so tudi pozitivno obarvanje Langerhansovih celic kože in velikih infiltrirajočih zrnatih limfocitov. Pri določenem odstotku primerov je lahko prisotno obarvanje membrane maščobnega tkiva. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 52).

### Neormalna tkiva

NCL-L-S100p je obarval 53/155 ocenjenih tumorskih tkiv, vključno s kožnimi tumorji (47/112, vključno s 43/50 malignih melanomov, 1/10 karcinomov lojnic, 1/3 malignih nevromov, 2/2 adenoidnih cističnih karcinomov, 0/16 ploščatoceličnih karcinomov, 0/14 karcinomov bazalnih celic, 0/10 dermatofibrosarkomov, 0/3 metastatskih adenokarcinomov, 0/1 adenokarcinoma lojnic, 0/1 fibrosarkoma, 0/1 pleomorfnega nediferenciranega sarkoma in 0/1 leiomijsarkoma), papilarni karcinome ščitnice (2/4), tumorje jajčnikov (1/4), možganske tumorje (2/2), tumorje mehkih tkiv (1/2), jetrne karcinome (0/5), pljučne karcinome (0/4), ploščatocelične karcinome požiralnika (0/2), ploščatocelične karcinome materničnega vratu (0/2), ploščatocelične karcinome jezika (0/2), karcinome dojke (0/2), želodčne adenokarcinome (0/2), adenokarcinome kolona (0/2), rektalne adenokarcinome (0/2), karcinome ledvičnih celic (0/2), seminome testisov (0/2), metastatske karcinome neznanega izvora (0/2), ploščatocelične karcinome grla (0/1) in atipični karcinoidni tumor priželjca (0/1). (Skupno število ocenjenih primerov = 155).

**Izdelek NCL-L-S100p se priporoča za zaznavanje človeške beljakovine S-100 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih barvil.**

## Splošne omejitve

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

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegovo obdelavo pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odtajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzročijo nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali lažne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega. 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

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

Navedba smiselno ni potrebna.

### **Datum izdaje**

09 november 2018



# Novocastra™ Tekutá králičí polyklonální protilátka S100 Protein

## Kód výrobku: NCL-L-S100p

### Zamýšlené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-S100p je určen ke kvalitativnímu stanovení lidského proteinu S100 světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

### Princip metody

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

### Klon

Nevztahuje se.

### Imunogen

S-100 izolovaný z kravského mozku.

### Specifická

Protilátka reaguje s kravským S-100 A a B a silně křížově reaguje s lidským S-100 A a B.

Protilátka rovněž křížově reaguje s kuřecím, prasečím, klokaním, psím, kočičím, opičím, myším a krysím S-100.

### Složení reagencie

Produkt NCL-L-S100p je tekutá imunoglobulinová frakce purifikovaná z králičího séra, zředěná v PBS s 1% BSA obsahujícím azid sodný. Stopy křížově reagujících protilátek byly odstraněny absorpcí v pevné fázi s proteinými lidské plazmy a kravského séra. Objem je uveden na štítku na lahvičce.

### Třída Ig

Nevztahuje se.

### Koncentrace celkového proteinu Total Protein

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

### Koncentrace protilátek

Nevztahuje se.

### Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

**Odmaskování epitopu:** Nedoporučuje se.

**Doporučené ředění:** 1:200 po dobu 30 minut při teplotě 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™. Další informace o produktu nebo podporu si vyžádejte od místního distributora nebo oblastní 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 reagencie byla připravena z purifikovaného králičího séra. Protože jde o biologický produkt, je nutno manipulaci s ní věnovat náležitou pozornost.

Tato reagencie 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.<sup>1</sup> Reagencie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagencí a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagencie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení. Inkubační doby nebo teploty jiné než předepsané mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

## Kontrola jakosti

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

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

## Pozitivní tkáňová kontrola

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

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

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

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je periferní nerv ve stěvě.

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 specifity označení cílového antigenu primární protilátkou.

Doporučená negativní tkáňová kontrola jsou svalová vlákna.

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

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálním může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.<sup>3</sup> Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakčního substrátu. Mohou být také způsobeny endogenními enzymy, jako je např. pseudoperoxidáza (erythrocyty), endogenní peroxidáza (cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarviva. K odlišení aktivity endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické 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-S100p. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáně

NCL-L-S100p rozpoznává neuroektodermální komponenty řady typů tkání, včetně mozku, tlustého střeva, kůže, lymfatické uzliny, prostaty, srdce, děložního hrdla, brzlíku, jazyka, kosterního svalu, slinné žlázy, myometria, pankreatu, vejcovodu, jícnu, střeva, ledviny, žlučníku a nadledviny. Rovněž lze pozorovat pozitivní barvení Langerhansových buněk kůže a velkých infiltrujících granulárních lymfocytů. V procentech případů může rovněž docházet k membránovému barvení adipózní tkáně. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 52).

### Abnormální tkáně

NCL-L-S100p barvil 53/155 vzorků vyšetřovaných nádorových tkání, včetně nádorů kůže (47/112, včetně 43/50 maligních melanomů, 1/10 karcinomů potních žláz, 1/3 maligních schwanomů, 2/2 adenoidních cystických karcinomů, 0/16 karcinomů skvamózních buněk, 0/14 karcinomů bazálních buněk, 0/10 dermatofibrosarkomů, 0/3 metastatických adenokarcinomů, 0/1 sebaceózního adenokarcinomu, 0/1 fibrosarkomu, 0/1 pleomorfického nediferencovaného sarkomu a 0/1 leiomyosarkomu), thyroïdních papilárních karcinomů (2/4), ovariálních nádorů (1/4), nádorů mozku (2/2), nádorů měkkých tkání (1/2), karcinomů jater (0/5), karcinomů plic (0/4), karcinomů skvamózních buněk jícnu (0/2), karcinomů skvamózních buněk děložního hrdla (0/2), karcinomů skvamózních buněk jazyka (0/2), karcinomů prsu (0/2), adenokarcinomů žaludku (0/2), adenokarcinomů tlustého střeva (0/2), rektálních adenokarcinomů (0/2), karcinomů renálních buněk (0/2), testikulárních seminomů (0/2), metastatických karcinomů neznámého původu (0/2), karcinomu skvamózních buněk hrtanu (0/1) a atypického karcinoidního nádoru thymu (0/1). (Celkový počet vyšetřovaných nádorů = 155).

**NCL-L-S100p se doporučuje k detekci lidského proteinu S-100 u normálních a neoplastických tkáních jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.**

## Obecná omezení

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

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

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

Protílátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají, 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 jakéhokoli barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfológickou 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

#### **Opravy předchozího vydání**

Nevztahuje se.

#### **Datum vydání**

09 listopadu 2018

# Tekutá králičia polyklonálna protilátka Novocastra™

## S100 Protein

### Kód produktu: NCL-L-S100p

#### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-S100p slúži na kvalitatívnu identifikáciu proteínu S100 v parafínových rezoch pomocou svetelnej mikroskopie. Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými výšetreniami pri použití zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších 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

Neuplatňuje sa.

#### Imunogén

S-100 izolovaný z mozgu kravy.

#### Špecificita

Protilátka reaguje s kravskou látkou S-100 A a B a silno krížovo reaguje s ľudskými látkami S-100 A a B.

Protilátka tiež krížovo reaguje s kuracou, prasacou, kengouro, psou, mačacou, opičou, myšacou a potkaňou látkou S-100.

#### Zloženie činidla

NCL-L-S100p je tekutá imunoglobulínová frakcia purifikovaná z králičieho séra zriedeného v PBS s 1 % BSA obsahujúcim azid sodný. Stopy krížovo reagujúcich protilátok boli odstránené absorpciou pevnou fázou s ľudskou plazmou a kravským sérom. Objem je uvedený na štítku fľaštičky.

#### Trieda Ig

Neuplatňuje sa.

#### Celková koncentrácia proteínov Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

Neuplatňuje sa.

#### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

**Záchyt epitopov:** neodporúča sa.

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

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

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

#### Uskladnenie a stabilita

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

#### Príprava vzorky

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

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

Toto činidlo bolo pripravené z purifikovaného králičieho séra. 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 stránke [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 pitevné/bioptické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formálnom a spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

## Positívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia.

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

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

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu sú periférne nervy v črevách.

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

## Negatívna kontrola tkanivom

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

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu sú svalové vlákna.

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 nafaarbiť 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-S100p preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly činidlom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testov znamená negatívny výsledok, že antigén nebol detegovaný. Nepotvrďuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

## Očakávaný výsledky

### Normálne tkanivá

NCL-L-S100p rozoznáva neuroektodermálne zložky rôznych typov tkanív vrátane mozgu, hrubého čreva, kože, lymfatických uzlín, prostaty, srdca, krčka maternice, týmusu, jazyka, kostrového svalstva, slinnej žľazy, myometria, pankreasu, vajčkovodu, pažeráka, čriev, obličiek, žlčníka a nadobličiek. Je možné pozorovať aj pozitívne zafarbenie Langerhansových buniek kože a veľkých infiltrujúcich granulovaných lymfocytov. V určitom percente prípadov sa môže objaviť aj membránové zafarbenie tukového tkaniva. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 52).

### Abnormálne tkanivá

NCL-L-S100p zafarbil 53/155 hodnotených nádorových tkanív vrátane nádorov kože (47/112, vrátane 43/50 malígnych melanómov, 1/10 karcinómov potnej žľazy, 1/3 malígnych schwannómov, 2/2 adenoidne cystických karcinómov, 0/16 skvamocelulárnych karcinómov, 0/14 bazocelulárnych karcinómov, 0/10 dermatofibrosarkómov, 0/3 metastatických adenokarcinómov, 0/1 sebaceózneho adenokarcinómu, 0/1 fibrosarkómu, 0/1 pleomorfného nediferencovaného sarkómu a 0/1 leiomyosarkómu), papilárnych karcinómov štítnej žľazy (2/4), nádorov vaječníkov (1/4), nádorov mozgu (2/2), nádorov mäkkých tkanív (1/2), karcinómov pečene (0/5), karcinómov pľúc (0/4), skvamocelulárnych karcinómov pažeráka (0/2), skvamocelulárnych karcinómov krčka maternice (0/2), skvamocelulárnych karcinómov jazyka (0/2), karcinómov prsníka (0/2), adenokarcinómov žalúdka (0/2), adenokarcinómov hrubého čreva (0/2), adenokarcinómov konečníka (0/2), karcinómov renálnych buniek (0/2), seminómov semenníkov (0/2), metastatických karcinómov neznámeho pôvodu (0/2), skvamocelulárneho karcinómu hrtana (0/1) a atypického karcinoidného nádoru týmusu (0/1). (Celkový počet vyšetrených nádorov = 155).

**NCL-L-S100p je odporúčaným prostriedkom na detekciu proteínu ľudského S-100 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 nepravidłnosťami v tkanive.<sup>4</sup>

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami pri použití zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších 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. Chou Y-P, Lin J-W, Wang C-C, et al. The abnormalities in the p53/p21/WAF1 pathway have a significant role in the pathogenesis and progression of gastrointestinal stromal tumors. Oncology Reports. 2008; 19:49-56.
6. Chang K-C, Tai M-H, Lin J-W, et al. Hepatoma-derived growth factor is a novel prognostic factor for gastrointestinal stromal tumors. International Journal of Cancer. 2007; 121:1059-1065.
7. Gelderman KA, Zijlmans HJMAA, Vonk MJ et al. CD55 expression patterns on intestinal neuronal tissue are divergent from the brain. Gut. 2004; 53:507-513.

### **Úpravy predchádzajúceho vydania**

Neuplatňuje sa.

### **Dátum vydania**

09 novembra 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