

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human CD15  
Clone Carb-3**

---

**ENGLISH**  
Code M3631**Intended use**

For In Vitro Diagnostic Use.

Monoclonal Mouse Anti-Human Clone Carb-3 is intended for laboratory use in immunohistochemistry. Antibodies to CD15 may be useful for the identification of Hodgkin's disease. 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.

**Synonyms for antigen**

Lewis X (Le<sup>x</sup>) antigen (1,2), 3-fucosyl-N-acetyllactosamine [3-FL] (3), X-hapten (2,4), stage-specific embryonic antigen-1 [SSEA-1](1,2), lacto-N-fucopentaose III [LNFP III] (2).

**Summary and explanation**

CD15 is expressed on Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease and by various other cell types including myeloid cells and epithelial cells (2,4,5). Antibodies to CD15 recognize a pentasaccharide sequence occurring in lacto-N-fucopentaose III ceramide (also referred to as X hapten of Le<sup>x</sup>) found in higher glycolipids and glycoproteins (1,4). A review by Arber et al. has reported that antibodies to CD15 demonstrate positive staining in 87% of Hodgkin's disease including nodular sclerosing, mixed cellularity, and lymphocyte depletion, whereas the lymphocyte predominant variant exhibits a lower rate of positivity (37%). Among non-Hodgkin's lymphoma, 13% express CD15 including 4.1% B-cell, 21% T-cell, and 17% null-cell. CD15 expression has also been demonstrated in acute myeloid leukemia (65%) and chronic myelogenous leukemia (96% chronic phase and 54% blast phase). A relatively low level of CD15 expression has been reported in acute lymphoblastic leukemia (5.7% overall) with positivity observed in 7.7% common or precursor B-cell, 0% B-cell, 7.7% T-cell and 17.3% null-cell. Carcinomas derived from various organs have also been shown to be CD15 positive (56%) including adenocarcinomas, squamous cell carcinomas and undifferentiated large and small cell carcinomas (4).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

**Reagent provided**

Monoclonal Mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant (containing fetal bovine serum) dialyzed against 0.05 mol/L Tris/HCl, pH 7.2, and containing 0.015 mol/L sodium azide. This product contains stabilizing protein.

Clone: Carb-3      Isotype: IgM  
Mouse IgM concentration mg/L: See label on vial.

**Immunogen**

Immuno-affinity purified X-Hapten oligopeptide fragment from myelomonocytic leukemia cells

**Specificity**

In Western blotting of HL60 cell lysates the antibody labels a major band of ~220 kD corresponding to the expected molecular weight of CD15 (6).

**Precautions**

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

**Storage**

Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

### Specimen preparation including materials required but not supplied

#### Paraffin sections:

The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin.

Pre-treatment of deparaffinized tissue sections with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues with HIER using Dako Target Retrieval Solution (Codes S1700/S1699).

Waterbath HIER: 20 minutes at 95–99 °C. Preheat target retrieval solution prior to immersing slides.

After thermal treatment, allow the jar with buffer and slides to cool for 20 minutes at room temperature. Rinse sections gently with buffer or deionized water. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Dako Silanized Slides (Code S3003) is recommended.

#### Frozen sections and cell smears:

The antibody can be used for labeling acetone-fixed, frozen sections or fixed cell smears.

### Staining procedure including materials required but not supplied

**Dilution:** Monoclonal Mouse Anti-Human CD15, Code M3631, may be used at a dilution of 1:50 when applied on pretreated, formalin-fixed, paraffin-embedded sections using a 30 minute incubation at room temperature. It is recommended that the antibody is diluted in Dako Antibody Diluent (Code S0809). These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined individually by each laboratory. The recommended negative control reagent is Dako Negative Control, Mouse IgM (Code X0942), diluted to the same mouse IgM concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately prior to use. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens.

**Visualization:** Dako EnVision™+ System/HRP, Dual Link Rabbit/Mouse (Code K4061) is recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization system.

**Automation:** The antibody is well-suited for immunohistochemical staining using automated platforms, such as the Dako Autostainer.

### Staining interpretation

The cellular staining pattern is cytoplasmic and/or membranous (4, 7).

### Performance characteristics

#### Normal tissues (7):

Tissue Type (#tested)	Positively Staining Tissue Elements
Adrenal (3)	3/3 Endocrine cells of adrenal cortex (100%), cytoplasmic
Bone Marrow (3)	2/3 Myelocytes (100%), cytoplasmic 1/3 All cells (100%), cytoplasmic
Breast (2)	2/2 Ductal epithelium (25-100%), cytoplasmic
Brain/Cerebellum (3)	3/3 White matter, grey matter (100%), diffuse
Brain/Cerebrum (3)	3/3 White matter, grey matter (100%), diffuse
Cervix (2)	0/2
Colon (2)	1/2 Mucosal glandular epithelium (50%), punctuate, apical cytoplasmic 1/2 Mucosal epithelium (20%), apical cytoplasmic
Esophagus (2)	2/2 Non-basal squamous epithelium (100%), cytoplasmic
Heart (3)	0/3
Kidney (3)	3/3 Cortical tubular epithelium (100%), cytoplasmic 2/3 Cortical and medullary endothelium (100%), cytoplasmic
Liver (3)	1/3 Sinusoidal endothelium (40%), cytoplasmic
Lung (3)	0/3
Mesothelial Cells (3)	2/3 Mesothelial cells (100%), cytoplasmic
Nerve (3)	0/3
Ovary (3)	0/3
Pancreas (3)	2/3 Acinar cell (25-50%), cytoplasmic
Parathyroid (3)	0/3
Pituitary (3)	3/3 Endocrine cells of adenohypophysis (75-100%), cytoplasmic 2/3 Neuropil of neurohypophysis (75-100%), diffuse
Prostate (2)	1/2 Glandular epithelium (50%), cytoplasmic
Salivary gland (3)	1/3 Ductal epithelium (100%), apical cytoplasmic 1/3 Glandular epithelium (20%), cytoplasmic
Skeletal muscle (3)	0/3
Skin (3)	0/3
Small intestine (3)	1/3 Mucosal epithelium (20%), apical cytoplasmic
Spleen (3)	3/3 Myeloid cells (100%), cytoplasmic
Stomach (3)	3/3 Gastric mucosa (100%), cytoplasmic

Testis (3)	0/3
Thymus (3)	2/3 Hassel's corpuscles (100%), non-cellular
Thyroid (2)	0/2
Tonsil (3)	2/3 Overlying squamous epithelium (50-100%), cytoplasmic
Uterus (2)	2/2 Glandular epithelium (15-75%), cytoplasmic

## FRANÇAIS

Réf. M3631

### Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique In Vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Clone Carb-3 est destiné à être utilisé en immunohistochimie. Les anticorps dirigés contre le CD15 peuvent être utiles pour l'identification de la maladie de Hodgkin. L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

### Synonymes de l'antigène

Antigène Lewis X (Le<sup>x</sup>) (1,2), 3-fucosyl-N-acétyl-lactosamine [3-FAL] (3), haptène X (2,4), antigène embryonnaire spécifique au stade 1 [SSEA-1](1,2), lacto-N-fucopentose III [LNFP III] (2).

### Résumé et explication

Le CD15 est exprimé sur les cellules de Reed-Sternberg de la maladie de Hodgkin et par plusieurs autres types de cellules, notamment les cellules myéloïdes et épithéliales (2,4,5). Les anticorps dirigés contre le CD15 reconnaissent une séquence pentasaccharide qui se produit dans le lacto-N-fucopentose III céramide (également appelé haptène X de Le<sup>x</sup>) présent dans les glycolipides et glycoprotéines supérieurs (1,4). Une révision effectuée par Arber et al. a indiqué que les anticorps dirigés contre le CD15 présentent une coloration positive dans 87 % des cas de maladie de Hodgkin, y compris la sclérose nodulaire, la cellularité mixte et la déplétion des lymphocytes, alors que la variante dominante des lymphocytes affiche un taux de positivité plus faible (37 %). Parmi les lymphomes non hodgkiniens, 13 % expriment le CD15 dont 4,1 % de lymphocytes B, 21 % de lymphocytes T et 17 % à cellules nulles. L'expression du CD15 a également été démontrée dans la leucémie myéloïde aiguë (65 %) et dans la leucémie myéloïde chronique (96 % en phase chronique et 54 % en phase blastique). Un niveau relativement faible d'expression du CD15 a été signalé dans les leucémies lymphoblastiques aiguës (5,7 % globalement) avec une positivité observée dans 7,7 % des précurseurs des lymphocytes B ou des lymphocytes B courants, 0 % des lymphocytes B, 7,7 % des lymphocytes T et 17,3 % des cellules nulles. Les carcinomes liés à plusieurs organes se sont également avérés positifs au CD15 (56 %) y compris les adénocarcinomes, les carcinomes à cellules squameuses et les carcinomes à petites et à grandes cellules indifférenciés (4).

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériaux requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

### Réactifs fournis

Anticorps monoclonal de souris fourni sous forme liquide comme surnageant de culture cellulaire (contenant du sérum bovin fœtal) dialysé en utilisant 0,05 mol/L de tampon Tris-HCl, de pH 7,2 et contenant 0,015 mol/L d'azide de sodium. Ce produit contient une protéine stabilisante.

Clone : Carb-3 Isotype : IgM

Concentration des IgM de souris en mg/L : voir l'étiquette du flacon.

### Immunogène

Fragment d'oligopeptide d'haptène X purifié par immunoaffinité des cellules leucémiques myélomonocytaires

### Spécificité

Par Western blot de lysats de cellules HL60, l'anticorps marque une bande principale de ~220 kD correspondant au poids moléculaire attendu du CD15 (6).

### Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

### Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce (114955-001)

produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

### Préparation des échantillons, y compris les matériels requis mais non fournis

#### Coupes en paraffine :

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol.

Un prétraitement des coupes de tissus déparaffinées par une restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire. Pour obtenir des résultats optimaux, prétraiter les tissus selon une technique de HIER, à l'aide du produit Dako Target Retrieval Solution (Réf. S1700/S1699).

Bain-marie HIER : 20 minutes à 95–99 °C. Préchauffer la solution de restauration des cibles avant d'immerger les lames.

Après traitement thermique, laisser la cuve contenant le tampon et les lames refroidir pendant 20 minutes à température ambiante. Rincer doucement les coupes à l'aide d'un tampon ou d'eau déionisée. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ou lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des Dako Silanized Slides (réf. S3003).

#### Coupes congelées et frottis cellulaires :

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage de coupes congelées et fixées à l'acétone ou de frottis cellulaires fixés.

### Procédure de coloration y compris les matériels requis mais non fournis

**Dilution :** L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD15, Réf. M3631, peut être utilisé à une dilution de 1:50 lorsqu'il est appliqué sur des coupes fixées au formol, incluses en paraffine et prétraitées avec une incubation à température ambiante de 30 minutes. Il est recommandé que l'anticorps soit dilué avec le produit Dako Antibody Diluent (Réf. S0809). Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le Dako Negative Control, Mouse IgM (Réf. X0942), dilué à la même concentration en IgM de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation. Des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons du patient.

**Visualisation :** L'utilisation de Dako EnVision™+ System/HRP, Dual Link Rabbit/Mouse (Réf. K4061) est recommandée. Suivre la procédure incluse dans le système de visualisation sélectionné.

**Procédure automatisée :** L'anticorps est bien adapté à la coloration immunohistochimique sur les plates-formes automatisées, telles que le système Dako Autostainer.

### Interprétation de la coloration

Le schéma de coloration cellulaire est cytoplasmique et/ou membranaire (4, 7).

### Caractéristiques de performance

#### Tissus sains (7) :

Type de tissu (nbre testés)	Éléments de tissus colorés positivement
Surrénale (3)	3/3 des cellules endocrines du cortex surrénal (100 %), cytoplasmiques
Moelle osseuse (3)	2/3 (100 %), cytoplasmiques 1/3 de toutes les cellules (100 %), cytoplasmiques
Sein (2)	2/2 épithélium canalaire (25-100 %), cytoplasmiques
Cerveau, cervelet (3)	3/3 matière blanche, matière grise (100 %), diffus
Cerveau, cerebrum (3)	3/3 matière blanche, matière grise (100 %), diffus
Col de l'utérus (2)	0/2
Côlon (2)	1/2 épithélium glandulaire des muqueuses (50 %), ponctuées, apicales cytoplasmiques 1/2 épithélium de la muqueuse (20 %), apicales cytoplasmiques
Œsophage (2)	2/2 épithélium squameux non basal (100 %), cytoplasmiques
Cœur (3)	0/3
Rein (3)	3/3 épithélium tubulaire cortical (100 %), cytoplasmiques 2/3 endothélium cortical et médullaire (100 %), cytoplasmiques
Foie (3)	1/3 endothélium sinusoidal (40 %), cytoplasmique
Poumon (3)	0/3
Cellules mésothéliales (3)	2/3 des cellules mésothéliales (100 %), cytoplasmiques
Nerf périphérique (3)	0/3
Ovaire (3)	0/3
Pancréas (3)	2/3 des cellules acinaires (25-50 %), cytoplasmiques
Parathyroïde (3)	0/3
Hypophyse (3)	3/3 des cellules endocrine de l'adénohypophyse (75-100 %), cytoplasmiques 2/3 neuropile de la neurohypophyse (75-100 %), diffus
Prostate (2)	1/2 épithélium glandulaire (50%), cytoplasmique

Glande salivaire (3)	1/3 épithélium canalaire (100 %), cytoplasmique 1/3 épithélium glandulaire (20%), cytoplasmique
Muscle squelettique (3)	0/3
Peau (3)	0/3
Intestin grêle (3)	1/3 épithélium des muqueuses (20%), cytoplasmique
Rate (3)	3/3 des cellules myéloïdes (100 %), cytoplasmiques
Estomac (3)	3/3 de la muqueuse gastrique (100 %), cytoplasmiques
Testicule (3)	0/3
Thymus (3)	2/3 corpuscules de Hassal (100 %), non cellulaires
Thyroïde (2)	0/2
Amygdale (3)	2/3 épithélium squameux recouvrant (50-100 %), cytoplasmiques
Utérus (2)	2/2 épithélium glandulaire (15-75 %), cytoplasmiques

## DEUTSCH

### Code M3631

**Verwendungszweck**  
Zur In-Vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human Clone Carb-3 ist für die Laborverwendung in der Immunhistochemie vorgesehen. Antikörper gegen CD15 unterstützen die Identifizierung der Hodgkin-Krankheit. Die klinische Auswertung einer Färbung oder deren Ausbleiben muss durch morphologische Studien und geeignete Kontrollen bestätigt werden und unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen.

#### Synonyme für das Antigen

Lewis X (Le<sup>x</sup>) Antigen (1,2), 3-Fucosyl-N-Acetylglucosamin [3-FL] (3), X-Hapten (2,4), Stage-specific Embryonic Antigen-1 [SSEA-1](1,2), Lacto-N-Fucopentaose III [LNFP III] (2).

#### Zusammenfassung und Erklärung

CD15 wird in den Reed-Sternberg-Zellen von Morbus Hodgkin und von verschiedenen anderen Zelltypen, einschließlich Myeloidzellen und Epithelzellen, exprimiert (2,4,5). Antikörper gegen CD15 erkennen eine Pentasaccharid-Sequenz, die im Lacto-N-Fucopentaose III-Ceramid (auch als X-Hapten von Le<sup>x</sup> bezeichnet) auftritt, das sich in höheren Glykolipiden und Glykoproteinen findet (1,4). Eine Studie von Arber et al. hat gezeigt, dass sich Antikörper gegen CD15 bei 87 % der Fälle von Morbus Hodgkin positiv färben, einschließlich nodulärer Sklerose, gemischtzelligem Morbus Hodgkin und Lymphozytendepletion, wobei die Variante mit lymphozytärer Prädominanz eine niedrigere Positivitätsrate aufweist (37 %). Unter den Hodgkin-Lymphomen exprimieren 13 % CD15, einschließlich 4,1 % B-Zellen, 21 % T-Zellen und 17 % Null-Zellen. Die CD15-Expression wurde zudem bei der akuten myeloischen Leukämie (65 %) und der chronischen myelogenen Leukämie (96 % in der chronischen Phase und 54 % in der Blastenphase). Eine relativ schwache CD15-Expression wurde bei akuter Lymphoblastenleukämie (5,7 % insgesamt) nachgewiesen, wobei eine Positivität in 7,7 % der allgemeinen oder Vorläufer-B-Zellen, 0 % der B-Zellen, 7,7 % der T-Zellen und 17,3 % der Null-Zellen beobachtet wurde. Es wurde nachgewiesen, dass auch Karzinome unterschiedlicher Organe CD15-positiv sind (56 %), einschließlich Adenokarzinome, squamöse Zellkarzinome und undifferenzierte große und kleine Zellkarzinome (4).

Weitere Informationen hierzu sind den *Allgemeinen Richtlinien zur immunohistochemischen Färbung* von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren zu entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

#### Mitgelieferte Reagenzien

Monoclonal Mouse Antibody wird in flüssiger Form als Zellkulturüberstand (mit fötalem Rinderserum) geliefert, der gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2 und 0,015 mol/L Natriumazid dialysiert wurde. Das Produkt enthält Proteine zur Stabilisierung.

Klon: Carb-3      Isotyp: IgM  
Konzentration Maus-IgM mg/L: Siehe Fläschchenetikett.

#### Immunogen

Immunaффinitätsbereinigtes X-Hapten-Oligopeptid-Fragment aus myelomonozytischen Leukämiezellen.

### **Spezifität**

Beim Western-Blotting von HL60-Zelllysaten erkannte der Antikörper eine bedeutende Bande bei ~220 kD, die mit dem erwarteten Molekulargewicht von CD15 übereinstimmt (6).

### **Vorsichtsmaßnahmen**

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ ), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von Natriumazid können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

### **Aufbewahrung**

Bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

### **Vorbereitung der Probe, einschließlich erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien**

#### Paraffinschnitte

Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden.

Die entparaffinierten Gewebeschnitte erfordern eine Vorbehandlung mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung (heat-induced epitope retrieval, HIER). Optimale Ergebnisse werden durch eine Vorbehandlung der Gewebe mit dem HIER-Verfahren unter Verwendung der Dako Target Retrieval Solution (Code-Nr. S1700/S1699) erzielt.

Wasserbad HIER-Verfahren: 20 Minuten bei 95–99 °C. Demaskierungslösung vor dem Eintauchen der Objektträger erhitzen.

Das Gefäß mit Puffer und Objektträgern nach der Hitzebehandlung 20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen. Gewebeschnitte sorgfältig mit Puffer oder entionisiertem Wasser spülen. Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von Dako Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen.

#### Gefrierschnitte und Zellausstriche:

Der Antikörper kann zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und fixierten Zellausstrichen verwendet werden.

### **Färbeverfahren, einschließlich erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien**

Verdünnung: Monoclonal Rabbit Anti-Human CD15, Code-Nr. M3631, kann bei einer Verdünnung von 1:50 verwendet werden, bei einer Anwendung auf vorbehandelten, formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten mit einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur. Die Verdünnung des Antikörpers mit Dako Antibody Diluent (Code-Nr. S0809) wird empfohlen. Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Probe und Vorbereitungsmethode unterschiedlich sein und sollten von jedem Labor selbst bestimmt werden. Als Negativkontrolle wird Dako Negative Control, Mouse IgM (Code-Nr. X0942) empfohlen, die auf dieselbe Konzentration an Maus-IgM wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Es wird empfohlen, Antikörper und Negativkontrolle unmittelbar vor deren Verwendung zu verdünnen, außer wenn deren Stabilität im aktuellen Färbeverfahren festgelegt ist. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden.

Visualisierung: Es wird Dako EnVision™+ System/HRP, Dual Link Rabbit/Mouse (Code-Nr. K4061) empfohlen. Das für das ausgewählte Visualisierungssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Automatisierung: Der Antikörper eignet sich sehr gut für immunhistochemische Färbungen mit automatisierten Systemen, z. B. mit dem Dako Autostainer.

### **Auswertung der Färbung**

Das zelluläre Färbemuster ist zytoplasmatisch und/oder membranös (4, 7).









**Leistungsmerkmale**

Normale Gewebe (7):

<b>Gewebetyp (Anz. getestet)</b>	<b>Gewebeelemente mit positiver Färbung</b>
Nebennieren (3)	3/3 Nebennierenrindenzellen (100 %), zytoplasmatisch
Knochenmark (3)	2/3 Myelozyten (100 %), zytoplasmatisch 1/3 Alle Zellen (100 %), zytoplasmatisch
Brust (2)	2/2 Duktusepithel (25–100 %), zytoplasmatisch
Gehirn/Zerebellum (3)	3/3 Weiße Substanz, graue Substanz (100 %), diffus
Gehirn/Zerebrum (3)	3/3 Weiße Substanz, graue Substanz (100 %), diffus
Zervix (2)	0/2
Darm (2)	1/2 Schleimhaut-Drüsenepithel (50 %), punktuell, apikal zytoplasmatisch 1/2 Schleimhautepithel (20 %), apikal zytoplasmatisch
Ösophagus (2)	2/2 Nichtbasales Plattenepithel (100 %), zytoplasmatisch
Herz (3)	0/3
Niere (3)	3/3 Kortikales Tubulusepithel (100 %), zytoplasmatisch 2/3 Kortikales und medulläres Endothel (100 %), zytoplasmatisch
Leber (3)	1/3 Sinusoidales Endothel (40 %), zytoplasmatisch
Lunge (3)	0/3
Mesothelzellen (3)	2/3 Mesothelzellen (100 %), zytoplasmatisch
Nerv (3)	0/3
Eierstöcke (3)	0/3
Pankreas (3)	2/3 Azinuszellen (20–50 %), zytoplasmatisch
Nebenschilddrüse (3)	0/3
Hypophyse (3)	3/3 Endokrine Zellen der Adenohypophyse (75–100 %), zytoplasmatisch 2/3 Nervenfilz der Neurohypophyse (75–100 %), diffus
Prostata (2)	1/2 Drüsenepithel (50 %), zytoplasmatisch
Speicheldrüsen (3)	1/3 Duktusepithel (100 %), apikal zytoplasmatisch 1/3 Drüsenepithel (20 %), zytoplasmatisch
Skelettmuskulatur (3)	0/3
Haut (3)	0/3
Dünndarm (3)	1/3 Schleimhautepithel (20 %), apikal zytoplasmatisch
Milz (3)	3/3 Myleoidzellen (100 %), zytoplasmatisch
Magen (3)	3/3 Magenschleimhaut (100 %), zytoplasmatisch
Hoden (3)	0/3
Thymus (3)	2/3 Hassall-Körperchen (100 %), nicht zellulär
Schilddrüse (2)	0/2
Mandeln (3)	2/3 Überlagerndes Plattenepithel (50–100 %), zytoplasmatisch
Uterus (2)	2/2 Drüsenepithel (15–75 %), zytoplasmatisch

**References/ Bibliographie/ Literaturangaben**

- Ball ED. CD15 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer T, Tedder TF, Todd RF (eds). Leucocyte Typing V. White cell differentiation antigens. Oxford: Oxford Univ Press 1993;1:790-805
- Kannagi R. CD15 Workshop Panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEGK, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, Moretta L, Okumura K, Shaw S, Springer TA, Sugamura K, Zola H (eds). Leucocyte Typing VI. White Cell Differentiation Antigens. Garland Publishing Inc. New York, 1998;348-51
- Gocht A, Struckhoff G, Löhler J. Invited review. CD15-containing glycoconjugates in the central nervous system. *Histol Histopathol* 1996;11:1007-28
- Arber DA, Weiss LM. CD15: a review. *Applied Immunohistochem* 1993;1(1):17-30
- Kornstein MJ, Bonner H, Gee B, Cohen R, Brooks JJ. Leu M1 and S100 in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphomas. *AJCP* 1986;85(4):433-7
- M3631 WB011607 Report On File
- M3631 IHC003 Report On File

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Consult instructions for use <i>Consulter les instructions d'utilisation</i> <i>Gebrauchsanweisung beachten</i>
 Manufacturer Fabricant Hersteller	 Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU		 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum

PT0039/Rev C



Dako North America, Inc.  
6392 Via Real  
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655  
Fax 805 566 6688  
Technical Support 800 424 0021  
Customer Service 800 235 5763

**EC REP**

Dako Denmark A/S  
Produktionsvej 42  
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500  
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

Edition 02/07