

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Melanosome
Clone HMB45**

ENGLISH
Code M0634

Intended use

For In Vitro Diagnostic Use.

Monoclonal mouse anti-human melanosome, clone HMB45 (anti-melanosome, HMB45) is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy melanocytes with immature melanosome formation in normal and pathological paraffin-embedded tissue using immunohistochemical (IHC) test methods. Positive results aid in the classification of melanomas and melanocytic lesions and also aid in distinguishing metastatic amelanotic melanomas from other poorly differentiated tumors of uncertain origin. The clinical interpretation of any positive staining or its absence should be complemented by morphological and histological studies with proper controls. Evaluations should be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified individual.

Summary and explanation

The presence of the HMB45 antigen indicates active melanosome formation and thus melanocytic differentiation.⁵ It is also expressed in normal fetal melanocytes,^{2,3} but not in normal resting adult melanocytes, regardless of the degree of pigmentation.^{1,3,6} Upon activation, adult melanocytes can re-express the HMB45-defined antigen (as it is expressed in fetal melanocytes). Such melanocytes are activated by a variety of stimuli. For example, HMB45-positive cells have been detected in tissue overlying or adjacent to granulation tissue, hemangiomas, vessel-rich tumor stroma, and basal cell carcinoma.⁵⁻⁸ Hair follicles stain occasionally due to associated stimulated melanocytes.¹ Positive HMB45 staining has not been observed with melanocytes in lentigines or overlying fibroblastic proliferations such as keloids, dermatofibromas and old fibrotic hemangiomas.⁵ Non-melanocytic normal tissues do not react with the HMB45 antibody.

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 tissue culture supernatant in 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 and 0.015 mol/L sodium azide. This product contains stabilizing protein.

Clone: HMB45¹ Isotype: IgG₁, kappa
Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

M0634 may be used at a dilution of 1:50 when performing IHC using the EnVision™, EnVision™ Doublestain or LSAB™2 detection systems. These are guidelines only. Optimal antibody concentrations may vary depending on specimen and preparation method and should be determined by each individual laboratory.

The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.

Immunogen

Extract of pigmented melanoma metastases from lymph nodes

Specificity

Anti-melanosome, HMB45 has been shown to react with a 10 kD segment of a neuraminidase-sensitive sialylated glycoconjugate present in pre- and early-stage (immature) melanosomes.²⁻⁴

Materials required, but not supplied

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* and/or the detection system instructions. Suggested diluent for IHC procedures:

Antibody Diluent (code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures:

Mouse IgG₁ (code X0931)

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, NaN₃ 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.⁹
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 reagents 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.¹⁰ 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

Paraffin Sections

Anti-melanosome, HMB45 can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Other fixatives that are compatible with anti-melanosome, HMB45 include methacarn, zinc formalin, neutral buffered formalin or B5. Pretreatment of tissue with proteolytic enzymes is not recommended.

Cryostat Sections and Cell Smears

Anti-melanosome, HMB45 can be used for labelling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears.

Staining procedure

Follow the recommended procedure for the detection system selected.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-melanosome, HMB45 is cytoplasmic.

Product specific limitations

1. An HMB45-negative result does not exclude melanoma. Desmoplastic melanomas infrequently stain with the anti-melanosome, HMB45 antibody.^{4,11} Therefore it is recommended that this antibody be used in a panel of antibodies including anti-S-100. Anti-S-100 stains desmoplastic melanomas, but lacks the specificity of anti-melanosome, HMB45 for melanomas.
2. Anti-melanosome, HMB45 reacts with a melanocytic antigen, not a melanoma antigen. Anti-melanosome, HMB45 reactivity cannot differentiate between benign and malignant melanocytic lesions. Malignancy must be determined by other criteria.
3. Stimulated normal adult melanocytes (i.e. melanocytes overlying or adjacent to granulation tissue, hemangiomas, vessel-rich stroma and basal cell carcinomas) may express melanocytic antigens.⁵⁻⁸ In some basal cell carcinomas, rare HMB45-positive cells with dendritic morphology are scattered through-out and adjacent to the tumor. The origin of these HMB45-positive cells is unclear and may represent a "reactive" melanocytic population within the tumor.¹
4. Primary renal neoplasms are nonreactive, except for renal angiomyolipomas (RAML).^{12,13} An HMB45-related antigen located in the myeloid component of RAML appears to be similar to the melanocytic antigen in melanomas.¹²
5. Smooth muscle cells of pulmonary lymphangiomyomatosis (PLAM) exhibit an unusual phenotype characterized by anti-melanosome, HMB45 immunoreactivity distinct from other smooth muscle cell proliferations. Bonetti et al.¹⁴ tested 75 pathological lung transbronchial biopsies and only 6 PLAM specimens from 3 patients showed the presence of HMB45-positive cells.
6. Rare false-positive staining has been reported for nonmelanocytic tumors such as adenocarcinoma,^{15,16} olfactory neuroblastoma,¹² malignant lymphoma,¹⁶ clear cell tumor of the lung¹² and plasmacytoma¹⁷ with anti-melanosome, HMB45 ascites preparations.¹⁵⁻¹⁷ Nonspecific staining of normal breast epithelia, sweat glands, plasma cells and bronchial epithelia has also been observed with ascites-derived antibodies and appears as membranous and/or granular, cytoplasmic staining.¹⁷ These artifacts have been attributed to contaminated ascites preparation or inappropriately diluted antibody.^{4,15-17} No such staining has been reported with tissue culture supernatant preparations. Anti-melanosome, HMB45 is produced from tissue culture supernatant. If false-positive staining of nonmelanocytic neoplasia or normal epithelia occurs with anti-melanosome, HMB45, report the event to Dako's Technical Support Department.
7. This antibody does not work in Western blot assays.¹

Performance characteristics

Reproducibility

Anti-melanosome, HMB45 has been tested on serial sections of tissue specimens. Consistent staining results have been obtained with run-to-run and within-run antibody testing.

Normal Tissues

Normal adult tissues that exhibit positive staining with anti-melanosome, HMB45 include melanocytes (fetal and subset, melanocytes containing immature melanosomes), retinal pigment epithelia (prenatal and infantile). Negative tissues include adrenal gland, brain, breast, gallbladder, gastrointestinal tract, kidney, liver, lung, lymphoid tissue, mesenchymal cells, pancreas, peripheral nervous tissue, retinal pigment epithelia (adult), salivary gland, skin (melanocytes, normal resting, melanophages, Langerhans cells, keratinocytes, hair follicles, cutaneous nerves, sweat glands, sebaceous) and testis.

Abnormal Tissues

Anti-melanosome, HMB45 stains 245/256 (95.7%) of melanoma (excluding desmoplastic)^{1,3,5,6,11-14,18-20} and 245/291 (84.2%) of melanoma (including desmoplastic).^{1,3,5,6,11,18-20} Melanocytic atypical hyperplasia (2/2),¹ melanocytic neuroectoderm of infancy (1/1),⁶ renal angiomyolipoma (27/29)^{13,14} and various nevi (218/228)^{1,5,6,12} are stained by anti-melanoma, HMB45.

FRANÇAIS
Code M0634**Intérêt**

Pour diagnostic in vitro.

Mélanosome monoclonale anti-humaine de la souris, clone HMB45 (anti-mélanosome, HMB45) est destiné pour un usage au laboratoire afin d'identifier qualitativement par microscopie optique les mélanocytes à formations de mélanosomes immatures dans le tissu normal et pathologique inclus en paraffine en utilisant les méthodes d'analyse immunohistochimiques (IHC). Les résultats positifs aident dans la classification des mélanomes et des lésions mélanocytiques et aident également pour faire la distinction entre mélanomes amélanotiques métastatiques des autres tumeurs faiblement différenciées d'origine indéterminée. L'interprétation clinique de tout marquage positif ou de toute absence doit être complétée par des études morphologiques et histologiques à l'aide de témoins appropriés. Les évaluations doivent être réalisées uniquement par un professionnel agréé dans le contexte de l'historique clinique du patient et d'autres examens.

Résumé et explication

La présence de l'antigène indique une formation mélanosomique active et ainsi, une différenciation mélanocytique. Elle est également exprimée dans les mélanocytes normaux foetaux, mais qui n'est pas exprimée dans les mélanocytes adultes normales au repos, quelque soit le degré de pigmentation. Sur activation, les mélanocytes adultes peuvent ré exprimer l'antigène déterminé –HMB45 (comme exprimé dans les mélanocytes foetaux). De tels mélanocytes sont activés par une variété de stimulant. Par exemple, les cellules positives à HMB45 ont été détectées dans le tissu couvrant ou adjacent au tissu de granulation, les hémangiomes, la tumeur à vaisseaux riches du stroma, et le carcinome de la cellule basale. Les follicules pileux sont parfois marqués grâce aux mélanocytes stimulés associés. Un marquage HMB45 positif n'a pas été observé avec les mélanocytes dans les proliférations fibroblastiques recouvrantes ou lentignes telles que les chéloïdes, les dermatofibromes et les hémangiomes fibrotiques anciennes. Les tissus normaux non mélanocytiques ne réagissent pas à l'anticorps HMB45.

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection concernant les procédures IHC pour : 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.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris fourni sous forme liquide comme surnageant de culture tissulaire dans un tampon Tris-HCl à 0,05 mol/L, de pH 7,2, contenant de l'azide de sodium à 0,015 mol/L. Ce produit contient une protéine stabilisante.

Clone: HMB45¹ Isotype: IgG₁, kappa
Concentration IgG de souris mg/L: Voir l'étiquette sur le flacon.

M0634 peut être utilisé à une dilution de 1:50 en performant IHC en utilisant les systèmes de détection EnVision™, EnVision™ DoubleStain ou LSAB™ 2. Ces informations ne sont délivrées qu'à titre indicatif. Les conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation et doivent être déterminés par chaque laboratoire particulier.

La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

Extrait de métastases de mélanome pigmenté des ganglions lymphatiques

Spécificité

Anti-mélanosome, HMB45 a été montré réagir au segment de 10 kD du glyco-conjugué sialyté sensible à la neuraminidase présent aux stades prématurés des mélanosomes (immatures).²⁻⁴

Matériaux requis, mais non fournis

Se référer aux Dako's *Instructions Générales relatives à la procédure de Marquage Immunohistochimique* et/ou aux instructions du système de détection. Diluant suggéré pour les procédures IHC :

Antibody Diluent (code S0809)

Le témoin négatif suivant est requis pour les procédures IHC :

Mouse IgG₁ (code X0931)

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, le NaN₃ peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.⁹
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les réactifs non utilisés doivent être éliminés 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.¹⁰ Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que des 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 de l'échantillon

Coupes en paraffine

Anti-mélanosome, HMB45 peut être utilisé sur des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. D'autres fixateurs qui sont compatibles avec l'anti-mélanosome, HMB45 comprend : méthacarne ??, formol de zinc, formol tamponné neutre ou B5. Le prétraitement du tissu aux enzymes protéolytiques n'est pas recommandé.

Coupes Cryostat et Frottis Cellulaires

Anti-mélanosome, HMB45 peut être utilisé pour le marquage des coupes cryostat fixées à l'acétone ou frottis cellulaires fixés.

Procédure d'immunomarquage

Suivre la procédure recommandée pour le système de détection choisi.

L'interprétation du marquage

Le modèle de marquage cellulaire pour l'anti-mélanosome, HMB45 est cytoplasmique.

Limites du produit

1. Un résultat négatif HMB45 n'exclut pas le mélanome. Les mélanomes desmoplastiques sont quelquefois marqués à l'anticorps HMB45, anti-mélanosome.^{4,11} Par conséquent, il est recommandé que cet anticorps soit utilisé dans un panel d'anticorps comprenant l'anti-S-100. Anti-S-100 marque les mélanomes desmoplastiques, mais manque la spécificité de l'anti-mélanosome, HMB45 pour mélanomes.
2. Anti-mélanosome, HMB45 montre une réaction à l'antigène mélanocytaire, pas avec un antigène mélanome. La réactivité de l'anti-mélanosome, HMB45 ne peut différencier entre des lésions mélanocytiques malignes ou bénignes. La malignité doit être déterminée par d'autres critères.
3. Les mélanocytes adultes normaux (par ex. mélanocytes recouvrant ou adjacents au tissu de granulation, hémangiomes, stroma riches en vaisseaux et les carcinomes de la cellule basale) peuvent exprimer des antigènes mélanocytiques.⁵⁻⁸ Dans certains carcinomes de la cellule basale, des cellules rares positives au HMB45 à morphologie dendritique sont diffusées partout et adjacentes à la tumeur. L'origine de ces cellules positives à l'HMB45 n'est pas connue et peut représenter une population mélanocytaire « réactive » dans la tumeur.¹
4. Les néoplasmes rénaux primaires sont non réactifs, à l'exception des angiomyolipomes rénaux (RAML).^{12,13} Un antigène relatif au HMB45 situé dans le composant myéloïde du RAML paraît être similaire à l'antigène mélanocytaire dans les mélanomes.¹²
5. Les cellules du muscle lisse du lymphangiomyomatose pulmonaire (PLAM) montre un phénotype rare caractérisé par l'anti-mélanosome, d'immunoréactivité HMB45 distinct des autres proliférations cellulaires du muscle lisse. Bonetti et al.¹⁴ ont analysé 75 biopsies trans-bronchiques du poumon pathologique et seulement 6 échantillons PLAM de 3 patients ont montré la présence de cellules positives à l'HMB45.
6. Un marquage rare positif erroné a été signalé pour les tumeurs non mélanocytiques telles que l'adénocarcinome, le neuroblastome olfactif, le lymphome malin, la tumeur de la cellule claire du poumon et le plasmacytome avec l'anti-mélanosome, les préparations ascites HMB45. Un marquage non spécifique de l'épithélium du sein normal, glandes sudoripares, plasmocytes et l'épithélium bronchique ont été également observés avec des anticorps dérivés des ascites et apparaît comme un marquage cytoplasmique, membranaire et/ou granulaire. Ces artefacts ont été attribués à la préparation des ascites contaminées ou à l'anticorps inadéquatement dilué. Aucun marquage de ce type n'a été signalé avec les préparations surnageantes de culture tissulaire. Anti-mélanosome, HMB45 est produit d'un surnageant de culture tissulaire. Si un marquage positif erroné de néoplasie non mélanocytaire ou de l'épithélium normal se présente avec l'anti-mélanosome HMB45, veuillez le signaler aux Services Techniques de Dako.
7. Cet anticorps ne fonctionne pas dans les analyses de transfert de type Western.¹

Performances

Reproductibilité

Anti-mélanosome, HMB45 a été analysé sur des coupes en série des échantillons tissulaires. Des résultats consistants de marquage ont été obtenus avec l'analyse de l'anticorps écoulement à écoulement et au sein d'un écoulement.

Tissus Normaux

Les tissus adultes normaux qui manifestent un marquage positif à l'anti-mélanosome, HMB45 comprend les mélanocytes (foetal et sous-ensemble, mélanocytes contenant des mélanosomes immatures), l'épithélium du pigment rétinale (prénatal et infantile). Les tissus négatifs comprennent la glande adrénaire, le cerveau, le sein, la vésicule biliaire, le tractus digestif, le rein, le foie, le poumon, le tissu lymphoïde, les cellules mésenchymales, le pancréas, le tissu nerveux périphérique, l'épithélium du pigment rétinale (adulte), la glande salivaire, la peau (mélanocytes, normaux au repos, les mélanophages, les cellules de Langerhan, les kératinocytes, les follicules pileux, les nerfs cutanés, les glandes sudoripares et sébacées) et testicules.

Tissus Anormaux

Anti-mélanosome, HMB45 marque 245 sur 256 (95,7%) de mélanome (desmoplastique exclu)^{1,3,5,6,11-14,18-20} et 245 sur 291 cas (84,2%) de mélanome (desmoplastique compris).^{1,3,5,6,11,18-20} L'hyperplasie atypique mélanocytaire (2/2),¹ neuroectoderme mélanocytaire de l'enfance (1/1),⁶ l'angiomyolipome rénal (27 cas sur 29)^{13,14} et le naevi varié (218 sur 228)^{1,5,6,12} sont marqués par l'anti-mélanome, HMB45.

DEUTSCH
Code M0634

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoklonales anti-humanes Maus-Melanosom, Klon HMB45 (Anti-Melanosom, HMB45) ist für die Verwendung in Labors für die qualitative Identifizierung anhand von Lichtmikroskopie von Melanozyten mit unreifen Melanosombildungen in normalem und pathologischem paraffineingebettetem Gewebe unter Verwendung immunhistochemischer Testmethoden bestimmt. Positive Ergebnisse helfen bei der Klassifizierung von Melanomen und melanozytischen Läsionen und helfen auch bei der Differenzierung metastatischer amelanotischer Melanome von anderen schwach differenzierten Tumoren unbekanntes Ursprungs. Die klinische Bewertung einer vorhandenen oder fehlenden positiven Färbung sollte durch morphologische und histologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt werden. Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.

Zusammenfassung und Erläuterung

Das Vorliegen des Antigens weist auf aktive Melanosombildungen hin und daher auf melanozytische Differenzierung.⁵ Es wird auch in normalen fetalen Melanozyten exprimiert,^{2,3} doch nicht in normalen ruhenden Melanozyten von Erwachsenen, ungeachtet des Grades der Pigmentierung.^{1,3,6} Nach der Aktivierung können Melanozyten von Erwachsenen das HMB45-definierte Antigen (wie es in fötalen Melanozyten exprimiert wird) erneut exprimieren. Solche Melanozyten werden durch eine Vielzahl von Stimulanzen aktiviert. Zum Beispiel wurden HMB45-positive Zellen in Gewebe nachgewiesen, das Granulationsgewebe, Hämangiome, gefäßreiche Stroma und Basalzellenkarzinom überlappt oder in deren Nähe ist.⁵⁻⁸ Haarfollikel färben gelegentlich, auf Grund der damit verbundenen stimulierten Melanozyten.¹ Positive HMB45 Färbung wurde bei Melanozyten in Lentiginose oder überlappenden fibroblastischen Proliferationen wie Keloiden, Dermatofibromen und alten fibrotischen Hämangiomen, nicht beobachtet.⁸ Nicht-melanozytische normale Gewebe reagieren nicht mit dem HMB45-Antikörper.

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlerbehebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand in 0,05 mol/L Tris-HCl-Puffer, pH 7,2 und 0,015 mol/L Natriumazid. Dieses Produkt enthält ein Stabilisatorprotein.

Klon: HMB45¹ Isotyp: IgG₁, kappa
Maus IgG-Konzentration mg/L: Siehe Produktetikett.

M0634 kann bei einer Verdünnung von 1:50 verwendet werden, wenn IHC unter Verwendung des EnVision™, EnVision™ Doublestain oder LSAB™2 Nachweissystems durchgeführt wird. Es handelt sich hierbei nur um Richtlinien. Die optimalen Antikörperkonzentrationen können je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung schwanken und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden.

Die Proteinkonzentration kann bei den Chargen verschieden ausfallen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer wird bei jeder einzelnen Charge angeglichen, um vergleichbare immunhistochemische Färberegebnisse zwischen den Chargen mit einer Referenzcharge zu gewährleisten.

Immunogen

Extrakt von pigmentierten Melanommetastasen von Lymphknoten.

Spezifität

Mit Anti-Melanosom, HMB45, zeigte sich eine Reaktivität mit einem 10 kD Segment eines neuraminidase-sensitiven mit Sialinsäure verbundenem Glykokonjugats, das im Prä- und Frühstadium (unreif) von Melanosomen vorliegt.²⁻⁴

Zusätzlich benötigte Reagenzien und Zubehör (außerhalb des Lieferumfangs)

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako und/oder Anweisungen des Detektionssystems. Empfohlenes Verdünnungsmedium für IHC-Verfahren:

Antikörperverdünnungsmedium (Code S0809)

Die folgende Negativkontrolle wird für IHC-Verfahren empfohlen:

Maus IgG₁ (Code X0931)

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von NaN₃ 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.⁹
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, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden.¹⁰ Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktstabilität. 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.

Probenvorbereitung

Paraffinschnitte:

Anti-Melanosom, HMB45, kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten genutzt werden. Andere Fixative, die mit Anti-Melanosom, HMB45, kompatibel sind umfassen Methacarn, Zinkformalin, neutrales gepuffertes Formalin oder B5. Die Vorbehandlung des Gewebes mit proteolytischen Enzymen wird nicht empfohlen.

Kryostatschnitte und Zellabstriche

Anti-Melanosom, HMB45, kann für die Markierung von azetonfixierten Kryostatschnitten und fixierten Zellausstrichen verwendet werden.

Färbeprozedur

Das empfohlene Verfahren für das gewählte Nachweissystem befolgen.

Interpretation der Färbung

Das zelluläre Färbungsmuster für Anti-Melanosom, HMB45, ist zytoplasmatisch.

Produktspezifische Beschränkungen

- Ein HMB45-negatives Ergebnis schließt Melanom nicht aus. Desmoplastische Melanome färben Anti-Melanosom, HMB45 Antikörper in seltenen Fällen.^{4,11} Daher wird empfohlen, dass der Antikörper in einem Panel von Antikörpern verwendet wird, wie u.a. Anti-S-100. Anti-S-100 färbt desmoplastische Melanome, doch fehlt ihm die Spezifität von Anti-Melanosom, HMB45, für Melanome.
- Anti-Melanosom, HMB45, reagiert mit einem melanozytischen Antigen, nicht einem Melanomantigen. Anti-Melanosom, HMB45, Reaktivität kann nicht zwischen gutartigen und bösartigen melanozytischen Läsionen differenzieren. Malignität muss anhand anderer Kriterien nachgewiesen werden.
- Stimulierte normale Melanozyten von Erwachsenen (z.B. Melanozyten, die Granulationsgewebe, Hämangiome, gefäßreiche Stroma und Basalzellenkarzinome überlagern oder in deren Nähe sind) können melanozytische Antigene exprimieren.⁵⁻⁸ In einigen Basalzellenkarzinomen sind seltene HMB45-positive Zellen mit dendritischer Morphologie über und in der Nähe des gesamten Tumors verstreut. Der Ursprung dieser HMB45-positiven Zellen ist unklar und kann eine "reaktive" melanozytische Population im Tumor repräsentieren.¹
- Primäre Nierenneoplasmen sind nicht reaktiv, mit Ausnahme von Angiomyolipomen der Niere (RAML).^{12,13} Ein HMB45-verbundenes Antigen, das in der myeloiden Komponente von RAML lokalisiert ist, erscheint dem melanozytischen Antigen in Melanomen ähnlich.¹²
- Glatte Muskelzellen von Lymphangiomyomatose der Lungen (PLAM) weisen einen ungewöhnlichen Phänotyp auf, der durch Anti-Melanosom, HMB45, Immunreaktivität gekennzeichnet ist, die sich von anderen Proliferationen glatter Muskelzellen unterscheidet. Bonetti et al.¹⁴ testeten 75 pathologische transbronchiale Biopsien der Lungen und nur 6 PLAM Proben von 3 Patienten wiesen das Vorliegen von HMB45-positiven Zellen auf.
- Seltene falsch positive Färbung wurde bei nicht-melanozytischen Tumoren wie Adenokarzinom,^{15,16} Neuroblastom der Riechorgane,¹² bösartigem Lymphom,¹⁶ Hellzellentumoren der Lunge¹² und Plasmazytom¹⁷ mit Anti-Melanosom, HMB45 Aszitespräparationen berichtet.¹⁵⁻¹⁷ Nicht-spezifische Färbung von normalem Brustepithel, Schweißdrüsen, Plasmazellen und Bronchialepithel wurde auch bei von Aszites gewonnenen Antikörpern beobachtet und tritt als membranöse und/oder granuläre, zytoplasmatische Färbung auf.¹⁷ Diese Artefakte wurden kontaminierten Aszitespräparationen oder falsch verdünnten Antikörpern zugeschrieben.^{4,15-17} Bei Gewebekulturüberstandvorbereitungen wurde keine solche Färbung berichtet. Anti-Melanosom, HMB45, wird aus Gewebekulturüberstand produziert. Wenn falsch positive Färbung von nicht-melanozytischen Neoplasien oder normalem Epithel bei Anti-Melanosom, HMB45, auftritt, dieses Ereignis dem technischen Kundendienst von Dako melden.
- Dieser Antikörper funktioniert nicht mit Westernblot Assays.¹

Leistungseigenschaften

Wiederholbarkeit

Anti-Melanosom, HMB-45, wurde auf Serienschnitten von Gewebeproben getestet. Konsistente Markierungsergebnisse wurden bei Antikörpertests von Durchlauf zu Durchlauf sowie innerhalb von Durchläufen erzielt.

Normalgewebe

Normales Gewebe von Erwachsenen, das eine positive Markierung mit Anti-Melanosom, HMB-45, aufweist sind u.a. Melanozyten (fötale und Untergruppen, unreife Melanosome enthaltende Melanozyten), Retinapigmentepithel (pränatal und infantil). Negative Gewebe sind u.a. Nebenniere, Gehirn, Brust, Gallenblase, Magen-/Darmtrakt, Niere, Leber, Lungen, Lymphgewebe, Mesenchymalzellen, Pankreas, peripherales Nervengewebe, Retinapigmentepithel (Erwachsene), Speicheldrüse, Haut (Melanozyten, normale ruhende Melanophagen, Langerhanszellen, Keratinozyten, Haarfollikel, kutane Nerven, Schweißdrüsen, Talgdrüsen) und Testes.

Anomale Gewebe

Anti-Melanosom, HMB45, markiert 245/256 (95,7%) der Melanome (außer desmoplastische)^{1,3,5,6,11-14,18-20} und 245/291 (84,2%) der Melanome (einschließlich desmoplastische).^{1,3,5,6,11,18-20} Melanozytische atypische Hyperplasie (2/2),¹ melanozytische Neuroektoderm der Kindheit (1/1),⁹ Angiomyolipom der Niere (27/29)^{13,14} und verschiedene Naevi (218/228)^{1,5,6,12} werden von Anti-Melanom, HMB45, markiert.





References

Références

Literatur

- Gown AM, Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: Unique and cross-reacting antibodies. J Cell Biol 1982;95(2 Pt 1):414-24
- Kapur RP, Bigler SA, Skelly M, Gown AM. Anti-melanoma monoclonal antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. J Histochem Cytochem 1992;40(2):207-12

3. Esclamado RM, Gown AM, Vogel AM. Unique proteins defined by monoclonal antibodies specific for human melanoma. *Amer J Surg* 1986;152(4):376-85
4. Taatjes DJ, Arendash-Durand B, von Turkovich M, Trainer TD. HMB-45 antibody demonstrates melanosome specificity by immunoelectron microscopy. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117(3):264-8
5. Skelton HG, Smith KJ, Barrett TL, Lupton GP, Graham JH. HMB-45 staining in benign and malignant melanocytic lesions. *Amer J Dermatopathol* 1991;13(6):543-50
6. Colombari R, Bonetti F, Zamboni G, Scarpa A, Marino F, Tomezzoli A, Capelli P, Menestrina F, Chilosi M, Fiore-Donati L. Distribution of melanoma specific antibody (HMB-45) in benign and malignant melanocytic tumors. *Virch Arch A Pathol Anat* 1988;413(1):17-24
7. Smoller BR, Hsu A, Krueger J. HMB-45 monoclonal antibody recognizes an inducible and reversible melanocyte cytoplasmic protein. *J Cutan Pathol* 1991;18(5):315-22
8. Smoller BR, McNutt NS, Hsu A. HMB-45 recognizes stimulated melanocytes. *J Cutan Pathol* 1989;16(2):49-53
9. Department of Health, Education and Welfare, National Institute for Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ. No. 78-127, Current 13. August 16, 1976
10. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57FR7163. February 28, 1992
11. Wick MR, Swanson PE, Rocamora A. Recognition of malignant melanoma by monoclonal antibody HMB-45. An immunohistochemical study of 200 paraffin-embedded cutaneous tumors. *J Cutan Pathol* 1988;15(4):201-7
12. Ashfaq R, Weinberg AG, Albores-Saavedra J. Renal angiomyolipomas and HMB-45 reactivity. *Canc* 1993;71(10):3091-7
13. Pea M, Bonetti F, Zamboni G, Martignoni G, Riva M, Colombari R, Mombello A, Bonzanini M, Scarpa A, Ghimenton C, Donati LF. Melanocyte-marker-HMB-45 is regularly expressed in angiomyolipoma of the kidney. *Pathol* 1991;23(3):185-8
14. Bonetti F, Chiodera PL, Pea M, Martignoni G, Bosi F, Zamboni G, Mariuzzi GM. Transbronchial biopsy in lymphangiomyomatosis of the lung. HMB45 for diagnosis. *Amer J Surg Pathol* 1993;17(11):1092-102
15. Bonetti F, Pea M, Martignoni G, Mombello A, Colombari R, Zamboni G, Scarpa A, Piubello Q, Bacchi CE, Gown AM. False-positive immunostaining of normal epithelia and carcinomas with ascites fluid preparation of antimelanoma monoclonal antibody HMB45. *Amer J Clin Pathol* 1991;95(4):454-9
16. Bacchi CE, Gown AM. Letters to the Editor. Specificity of antibody HMB-45. *Arch Pathol Lab Med.* 1992;116(9):899-900
17. Leong AS-Y, Milios J. An assessment of a melanoma-specific antibody (HMB-45) and other immuno-histochemical markers of malignant melanoma in paraffin-embedded tissues. *Surg Pathol* 1989;2(2):137-45
18. Ordonez NG, Ji XL, Hickey RC. Comparison of HMB-45 monoclonal antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma. *Amer J Clin Pathol* 1988;90(4):385-90
19. Bacchi CE, Goldfogel GA, Greer BE, Gown AM. Paget's disease and melanoma of the vulva. *Gyn Oncol* 1992;46(2):216-21
20. Herman GE. Unpublished data. Dako 1992

REF 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	LOT Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
EC REP Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU	IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	



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

PT0039/Rev C

Edition 01/09