

**Monoclonal Mouse
Anti-Human CD68**
Clone KP1
Code M0814

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>Monoclonal Mouse Anti-Human CD68, Clone KP1, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels macrophages and other members of the mononuclear phagocyte lineage and is a useful aid for the classification of neoplasms of myeloid and macrophage/monocyte origin (1). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. 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. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.</p>
Summary and Explanation	<p>CD68 is a highly glycosylated lysosomal membrane protein with an Mr of 110 000. The CD68 protein belongs to a family of lysosomal glycoprotein (LGP)/plasma membrane shuttling proteins that play a role in endocytosis and/or lysosomal trafficking. CD68 is expressed strongly in cytoplasmic granules, and weakly on the surface of macrophages, monocytes, neutrophils, basophils and NK-cells. Additionally, CD68 is expressed by some peripheral blood B cells and may be weakly expressed in B-cell type acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) cells. CD68 can also be found in the cytoplasm of non-hematopoietic tissues, especially the liver, and renal glomeruli, and tubules (2). Unlike many other CD leucocyte antigens, the CD68 molecule is antigenically very heterogenous, and different antibodies to CD68 show different cellular reactivities (3).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.</p>
Reagent provided	<p>Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L Na₃N.</p> <p><u>Clone</u>: KP1 (4). <u>Isotype</u>: IgG1, kappa.</p> <p><u>Mouse IgG concentration</u>: see label on vial.</p> <p>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.</p>
Immunogen	Lysosomal fraction of human lung macrophages (4).
Specificity	<p>The antibody was clustered as anti-CD68 at the Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens held in Vienna in 1989 (5).</p> <p>SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between the antibody and ¹²⁵I-labeled lysates from human spleen with B-cell lymphoma rich in macrophages shows reaction with a 110 kDa polypeptide, corresponding to CD68 (4).</p> <p>In Western blotting of extracts of lung, spleen and U937 cells, diffuse 110, 70 and 40 kDa bands were detected when using reducing conditions. Under non-reducing conditions the spleen extract showed an additional 220 kDa band (4).</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> For in vitro diagnostic use. For professional users. This product contains sodium azide (Na₃N), 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. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 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 user must verify the conditions. 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	<p><u>Paraffin sections</u>: The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formal saline, B5 (4) or formalin. Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Pre-treatment of tissues with proteinase K was found less efficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.</p>
Staining procedure	<p>These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.</p> <p><u>Dilution</u>: Monoclonal Mouse Anti-Human CD68, Code M0814, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Mouse IgG1, Code X0931, diluted to the same mouse IgG 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 before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S0809.</p> <p><u>Quality control</u>: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens.</p> <p><u>Visualization</u>: Dako EnVision+HRP kits, e.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.</p>
Product specific limitations	The antibody shows a lack of specificity in frozen sections where it labels a number of normal and neoplastic structures of lymphoid and epithelial components (6). Melanomas are commonly immunoreactive for histiocytic markers and the KP1 antibody labels about 68% of melanomas, typically providing diffuse and weak staining. Accordingly, the antibody should be used cautiously (7).

Staining interpretation	Myelomonocytic cells labeled by the antibody display a diffuse or granular cytoplasmic staining.
Performance characteristics	<p><u>Normal tissues:</u> In normal peripheral blood smears all monocytes and most granulocytes are labeled by the antibody. Tissue macrophages in a wide range of paraffin-embedded tissues are labeled, including lung, germinal center and bone marrow macrophages, and Kupffer cells in the liver. In the bone marrow also myeloid precursors, and many mature granulocytes are strongly labeled (4). Further, microglial cells in the brain (8), osteoclasts in bone, kidney glomeruli and mast cells are strongly labeled, while moderate reaction is observed with kidney tubules, hepatocytes and occasional lymphoid cells (6). Langerhans' cells, interdigitating reticulum cells, and follicular dendritic cells (FDC) are not labeled, except for weak labeling observed in a minority of FDCs in dermatopathic lymphadenopathy (4).</p> <p><u>Abnormal tissues:</u> Acute myeloid leukemias of M1 to M5 type are strongly labeled by the antibody (6). In another study, 20/20 neoplasms of myeloid, myelomonocytic and presumed macrophage derivation showed strong and extensive cytoplasmic reactivity with the antibody. 14/41 B-lineage lymphomas and leukemias were also labeled, but the labeling was usually confined to small dots. The labeled B-cell neoplasms were almost all small-cell proliferations (1). In 23/36 (64%) plasma cell hyperplasias, more than 1% of the plasma cells were labeled by the antibody (9). Of 43 primary and metastatic melanomas, 86% were labeled weakly by the antibody (7). All of 22 T-cell lymphomas were not labeled, as also 12/12 CD30+ anaplastic large-cell lymphomas (1).</p>

FRANÇAIS

Utilisation prévue	<p>Pour une utilisation diagnostique in vitro.</p> <p>L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD68, Clone KP1, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). Cet anticorps marque les macrophages et d'autres membres de la lignée des phagocytes mononucléaires et facilite la classification des néoplasmes d'origine myéloïde et de type macrophage/monocyte (1). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.</p>
Résumé et explication	<p>La CD68 est une protéine membranaire lysosomale très glycosylée d'un poids moléculaire de 110 000. La protéine CD68 appartient à une famille de glycoprotéines lysosomales (LGP)/protéines navettes de la membrane cytoplasmique qui jouent un rôle dans l'endocytose et/ou dans le trafic lysosomal. Le CD68 est fortement exprimé dans les granules cytoplasmiques, et faiblement exprimé à la surface des macrophages, des monocytes, des neutrophiles, des basophiles et des cellules NK. De plus, la CD68 est exprimée par certains lymphocytes B du sang périphérique et est faiblement exprimée dans les cellules de leucémie aiguë lymphoblastique à lymphocytes B (LAL-B). La CD68 peut également être présente dans le cytoplasme de tissus non hématopoïétiques, en particulier dans le foie et dans les tubules et glomérules rénaux (2). À la différence de nombreux autres antigènes leucocytaires CD, la molécule de CD68 est très hétérogène d'un point de vue antigénique, et différents anticorps anti-CD68 présentent différentes réactivités cellulaires (3).</p> <p>Consulter le document <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.</p>
Réactifs fournis	<p>Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris/HCl à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃).</p> <p><u>Clone :</u> KP1 (4). <u>Isotype :</u> IgG1, kappa.</p> <p><u>Concentration en IgG de souris :</u> Voir l'étiquette sur le flacon.</p> <p>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.</p>
Immunogène	La fraction lysosomale des macrophages pulmonaires humains (4).
Spécificité	<p>L'anticorps a été classé comme un anti-CD68 à la Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Quatrième Conférence et Atelier International sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains (HLDA)), événement qui s'est tenu à Vienne en 1989 (5).</p> <p>L'analyse par immunoblot PAGE en présence de SDS d'immunoprécipités formés entre l'anticorps et des lysats marqués à l'iode ¹²⁵I provenant de rate humaine et de lymphome à lymphocytes B riches en macrophages a révélé une réaction avec un polypeptide de 110 kDa, correspondant à la CD68 (4).</p> <p>Des bandes diffuses de 110, 70 et 40 kDa ont été détectées par Western blot d'extraits de poumon, de rate et de cellules U937 dans des conditions réductrices. Dans des conditions non réductrices, l'extrait de rate a présenté une bande supplémentaire de 220 kDa (4).</p>
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> Pour utilisation diagnostique in vitro. Pour utilisateurs professionnels. 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, 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. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
Conservation	Conservé 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'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce 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 des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.
Préparation des échantillons	<u>Coupes en paraffine :</u> L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées dans une solution saline de formol B5 (4) ou formol. Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec le produit Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, dans un tampon citrate à 10 mmol/L à pH 6,0 ou dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Le prétraitement des tissus par la protéinase K s'est révélé inefficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.
Procédure de coloration	<p>Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.</p> <p><u>Dilution :</u> Le Monoclonal Mouse Anti-Human CD68, réf. M0814, peut être utilisé à une gamme de dilution allant de 1:50 à 1:100 lorsqu'il est appliqué sur des coupes d'amygdale humaine fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans le produit Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG1, réf. X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie</p>

dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

Contrôle de qualité : Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

Limitations spécifiques du produit

L'anticorps présente un manque de spécificité dans les coupes congelées, où il marque un certain nombre de structures normales et néoplasiques de lymphoïdes et de composants épithéliaux (6). Les mélanomes sont généralement très immunoréactifs aux marqueurs histiocytaires, et l'anticorps KP1 marque environ 68% des mélanomes, avec généralement une coloration diffuse et faible. Par conséquent, il convient d'utiliser cet anticorps avec précaution (7).

Interprétation de la coloration

Les cellules myélomonocytaires marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique diffuse ou granulaire.

Performances

Tissus normaux : Dans les frottis de sang périphérique normal, tous les monocytes et la plupart des granulocytes sont marqués par l'anticorps. Les macrophages des tissus dans un grand nombre de tissus inclus en paraffine sont marqués, notamment les macrophages du poumon, du centre germinatif et de la moelle osseuse, ainsi que les cellules de Kupffer du foie. Dans la moelle osseuse, les précurseurs myéloïdes, ainsi que de nombreux granulocytes matures sont fortement marqués (4). En outre, les cellules microgliales du cerveau (8), les ostéoclastes osseux, les glomérules rénaux et les mastocytes sont fortement marqués, alors qu'une réaction modérée est observée sur les tubules rénaux, les hépatocytes et quelques cellules lymphoïdes (6). Les cellules de Langerhans, les cellules réticulaires interdigitées et les cellules dendritiques folliculaires ne sont pas marquées, à l'exception d'un faible marquage observé dans une minorité de cellules dendritiques folliculaires de lymphadénopathie dermatopathique (4).

Tissus anormaux : Les leucémies myéloïdes aiguës de type M1 à M5 sont fortement marquées par l'anticorps (6). Dans une autre étude, 20 néoplasmes sur 20 d'origine myéloïde, myélomonocytaires et macrophage présumée ont présenté une réactivité cytoplasmique forte et étendue à l'anticorps. 14 cas de lymphomes et de leucémies de lignée B sur 41 ont également été marqués mais le marquage était généralement limité à de petits points. Les néoplasmes à lymphocytes B marqués étaient presque tous des proliférations de petites cellules (1). Dans 23 cas sur 36 (64%) d'hyperplasie des cellules plasmiques, plus de 1% des cellules plasmiques étaient marquées par l'anticorps (9). Sur 43 mélanomes primaires et métastatiques, 86% étaient marqués faiblement par l'anticorps (7). Aucun des 22 lymphomes à lymphocytes T n'était marqué, de même que 12 cas sur 12 de lymphomes à grandes cellules anaplasiques CD30+ (1).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD68, Clone KP1, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert Makrophagen und andere Mitglieder der mononuklearen Phagozyten-Reihe und ist ein nützliches Hilfsmittel zur Klassifizierung von Neoplasmen myeloiden Ursprungs und aus Makrophagen/Monozyten (1). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer tretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

Zusammenfassung und Erklärung

CD68 ist ein hochglykosyliertes Membranprotein mit einem Mr von 110 000. Das CD68-Protein zählt zu einer Familie von Lysosomal-Glykoprotein (LGP)/Plasmamembran-Shuttleproteinen, die bei der Endozytose und/oder beim lysosomalen Trafficking eine Rolle spielen. CD68 wird in zytoplasmatischen Granula stark und auf der Oberfläche von Makrophagen, Monozyten, Neutrophilen, Basophilen und NK-Zellen schwach exprimiert. Außerdem wird CD68 von einigen B-Zellen im peripheren Blut exprimiert und kann in Zellen bei akuter lymphoblastischer Leukämie des B-Zellen-Typs (B-ALL) schwach exprimiert werden. CD68 tritt auch im Zytoplasma von nicht-hämatopoietischen Geweben, insbesondere der Leber, und in Nierenglomeruli und -tubuli auf (2). Anders als viele anderen CD-Leukozyten-Antigene ist das CD68-Molekül antigen sehr heterogen, und verschiedene Antikörper gegen CD68 weisen unterschiedliche zelluläre Reaktivitäten auf (3).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebevorbereitung, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L Na₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: KP1 (4). **Isotyp:** IgG1, Kappa.

Konzentration von Maus-IgG: Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbeergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

Lysosomale Fraktion menschlicher Lungen-Makrophagen (4).

Spezifität

Der Antikörper wurde 1989 bei dem/der Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (4. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten-Differenzierungsantigene) in Wien als Anti-CD68 geclustert (5).

Die SDS-PAGE-Analyse von Immunpräzipitaten, die zwischen dem Antikörper und ¹²⁵I-markierten Lysaten aus der menschlichen Milz mit B-Zell-Lymphom und hohem Gehalt an Makrophagen gebildet werden, zeigt eine Reaktion mit einem 110-kDa-Polypeptid, das CD68 entspricht (4).

Beim Western-Blotting von Extrakten aus Lungen-, Milz- und U937-Zellen wurden unter reduzierenden Bedingungen diffuse Banden mit 110, 70 und 40 kDa nachgewiesen. Unter nicht reduzierenden Bedingungen zeigt der Milzextrakt eine zusätzliche 220-kDa-Bande (4).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Gewebevorbereitung Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, in Formalin-Kochsalzlösung, B5 (4) oder Formalin fixierten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Resultate werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, oder 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0, erzielt. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K erwies sich als weniger effizient. Während der Gewebevorbehandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Färbeverfahren Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human CD68, Code-Nr. M0814, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:50 und 1:100 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, empfohlen, das auf dieselbe Konzentration an Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Detektionssystem: Dako EnVision+HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Produktspezifische Beschränkungen Der Antikörper weist in Gefrierschnitten einen Mangel an Spezifität auf und markiert hier einige normale und neoplastische Strukturen lymphoider und epithelialer Komponenten (6). Melanome sind gewöhnlich immunreaktiv auf histiozytäre Marker; auch der KP1 Antikörper markiert etwa 68% der Melanome, typischerweise durch eine diffuse und schwache Färbung. Dementsprechend sollte der Antikörper mit Vorsicht verwendet werden (7).

Auswertung der Färbung Vom Antikörper markierte myelomonocytyische Zellen zeigen eine diffuse oder granuläre zytoplasmatische Färbung.









Leistungseigenschaften Normale Gewebe: Bei Abstrichen von gesundem peripherem Blut werden alle Monozyten und die meisten Granulozyten vom Antikörper markiert. Gewebe-Makrophagen in den unterschiedlichsten paraffineingebetteten Geweben wurden ebenfalls markiert, einschließlich Makrophagen aus Lunge, Keimzentrum und Knochenmark und Kupffer-Zellen in der Leber. Im Knochenmark werden auch myeloide Vorläufer und viele ausgereifte Granulozyten stark markiert (4). Zudem werden Mikrogliazellen im Gehirn (8), Knochenosteoklasten, Nierenglomeruli und Mastzellen stark markiert, während Nierentubuli, Hepatozyten und gelegentlich Lymphomzellen nur eine mäßige Reaktion zeigen (6). Langerhans'sche Zellen, interdigitierende Retikulumzellen und follikulär dendritische Zellen (FDC) wurden nicht markiert, mit Ausnahme der schwachen Markierung bei einer Minderheit von FDCs in dermatopathischer Lymphadenopathie (4).

Anormale Gewebe: Akute myeloide Leukämien vom Typ M1 bis M5 wurden stark vom Antikörper markiert (6). In einer anderen Studie zeigten 20 von 20 Neoplasmen, die von myeloiden, myelomonocytyischen und mutmaßlichen Makrophagen abstammen, eine starke und umfassende zytoplasmatische Reaktivität mit dem Antikörper. 14 von 41 Lymphomen und Leukämien der B-Reihe wurden ebenfalls markiert, allerdings war die Markierung auf kleine Punkte beschränkt. Die markierten B-Zell-Neoplasmen waren praktisch ausnahmslos kleinzellige Proliferationen (1). In 23 von 36 (64%) Plasmazellen-Hyperplasien wurden mehr als 1% der Plasmazellen vom Antikörper markiert (9). Von 43 primären und metastatischen Melanomen wurden 86% vom Antikörper schwach markiert (7). Alle 22 T-Zell-Lymphome wurden nicht markiert, ebenso 12 von 12 CD30+ anaplastische großzellige Lymphome (1).

References/ Bibliographie/ Literatur

1. Warnke RA, Pulford KAF, Pallesen G, Ralfkiaer E, Brown DC, Gatter KC, et al. Diagnosis of myelomonocytic and macrophage neoplasms in routinely processed tissue biopsies with monoclonal antibody KP1. Am J Pathol 1989;135:1089-95.
2. Goyert SM. MC12. CD68 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 1015-16.
3. Falini B, Flenghi L, Pileri S, Gambacorta M, Bigerna B, Durkop H, et al. PG-M1: A new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. Am J Pathol 1993;142:1359-72.
4. Pulford KAF, Rigney EM, Micklem KJ, Jones M, Stross WP, Gatter KC, et al. KP1: a new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. J Clin Pathol 1989;42:414-21.
5. Micklem K, Cordell J, Rigney E, Simmons D, Pulford K, Stross P, et al. M13.1. A macrophage-associated antigen defined by five mAb. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. Leucocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference; 1989 Feb 21-25; Vienna, Austria. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1989. p. 843-46.
6. Cordell JL, Falini B, Flenghi L, Jones DB, Pileri S, Radzun HJ, et al. M15. CD68 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Bousmell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. p.925-7.
7. Pernick NL, DaSilva M, Gangi MD, Crissman J, Adsay V. "Histiocytic markers" in melanoma. Mod Pathol 1999;12:1072-7.
8. Aoki T, Kobayashi K, Isaki K. Microglial and astrocytic change in brains of Creutzfeldt-Jakob disease: an immunocytochemical and quantitative study. Clin Neuropathol 1999;18:51-60.
9. Beschorner R, Horny H-P, Petrucci UR, Kaiserling E. Frequent expression of haemopoietic and non-haemopoietic antigens by reactive plasma cells: an immunohistochemical study using formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. Histol Histopathol 1999;14:805-12.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft	



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com