



## ihcDirect® Cytokeratin 5 Anti-human Cytokeratin 5 (Klon R226)

Ab: K32014-015, 150 Färbereagenzien\*  
Ab-Blk: K47014-015, 150 Färbereagenzien\*  
Ab-Blk: K47014-010, 100 Färbereagenzien\*  
Ab-Blk: K47014-005, 50 Färbereagenzien\*

### Zweckbestimmung: Für die *In-vitro-Diagnostik*

Der polymerisierte mit Meerrettich-Peroxidase (pHRP) markierte Anti-Cytokeratin-5(CK5)-Antikörper (Cytokeratin 5-pHRP) ist für die labormäßige Verwendung zur qualitativen lichtmikroskopischen Identifizierung des Vorhandenseins von humanem Cytokeratin 5 in Abschnitten von formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeabschnitten oder tiefgefrorenen Gewebeproben mit Hilfe von Immunhistochemie(IHC)-Testmethoden vorgesehen. Die klinische Auswertung einer eventuell eingetretenen Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen/Arzt unter Berücksichtigung der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests vorgenommen werden. Dieses Konjugat wurde vorverdünnt und ohne weitere Verdünnung für den IHC-Gebrauch optimiert.

### Zusammenfassung und Erklärung:

Dieser Antikörper erkennt humanes Cytokeratin 5, ein intermediäres Filamentprotein mit einem Molekulargewicht von 58 kD innerhalb der Cytokeratin-Familie. CK5 wird im Plattenepithel, in Myoepithelzellen des Brustdrüsenorgans, im Mesothel und in Basalzellen der Prostata exprimiert. Die Hauptkomponente dieses Produkts ist der mit Meerrettich-Peroxidase(HRP)-Polymer (PolyHRP) markierte anti-humane monoklonale Cytokeratin-5-Kaninchenantikörper (Klon R226). Der vor der Anwendung des pHRP-Mart-1-Konjugats verwendete ihc Blocker hilft bei der Reduzierung der Hintergrundfärbung und der nicht spezifischen Färbung. Anschließend wird ein Chromogen, wie etwa das 3,3'-Diaminobenzidin, verwendet, um die Reaktionsstelle einzufärben.

### Verfahrensgrundlage:

Das gebrauchsfertige ihcDirect Poly-HRP-CK5-Antikörperkonjugat wird direkt auf die vorbehandelten Gewebeabschnitte aufgetragen, wo es an humanes Cytokeratin 5 bindet. Dann wird eine Chromogen-Arbeitslösung (Working Solution, WS), wie etwa ihc DAB 1:1, auf das Gewebe appliziert. Das an den Cytokeratin-5-Antikörper gebundene pHRP reagiert mit dem Chromogen und bildet damit ein sichtbar gefärbtes Produkt am Ort des humanen CK5. Die Probe kann dann gegengefärbt und mit einem Deckgläschen versehen werden. Die Ergebnisse können unter einem Lichtmikroskop betrachtet und interpretiert werden. Die Mengen beruhen auf 100 µl Antikörper pro Gewebeprobe. Dieses Produkt kann dafür verwendet werden, um IHC entweder manuell oder auf einem offenen automatisierten IHC-Färbesystem durchzuführen.

### Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien:

Artikel-Nr.	Σ	Beschreibung
K32014-015	150*	Gebrauchsfertiges ihcDirect-Cytokeratin-5-Antikörperkonjugat, Größe 15 ml. Siehe Abschnitt „Zusätzliche Reagenzien“.
K47014-015*	150*	Gebrauchsfertiges ihcDirect-Cytokeratin-5-Antikörperkonjugat, Größe 15 ml, mit einer äquivalenten Menge an ihc Blocker.
K47014-010*	100*	Gebrauchsfertiges ihcDirect-Cytokeratin-5-Antikörperkonjugat, Größe 10 ml, mit einer äquivalenten Menge an ihc Blocker.
K47014-005*	50*	Gebrauchsfertiges ihcDirect-Cytokeratin-5-Antikörperkonjugat, Größe 5 ml, mit einer äquivalenten Menge an ihc Blocker.

\* Bei einer geschätzten Menge von 100 µl Antikörperkonjugat pro Gewebeprobe

Immunogen	Klon	Spezies	Ig-Klasse	Gesamtproteinkonzentration
Humanes Cytokeratin 5	R226	Kaninchen	IgG	10 mg/ml

Der Cytokeratin-5-Antikörper ist ein monoklonaler Kaninchenantikörper gegen humanes Cytokeratin 5, das aus dem von tierischem Ursprung freien Zellkulturüberstand aufgereinigt wurde. HRP wurde aus der Meerrettich-Pflanze extrahiert. Der ihc Blocker enthält Casein und 1%iges BSA in einem proprietären Puffersystem. Novodix ihc DAB 1:1-Kit, ihc Magenta 1:1-Kit oder DAB-Kit werden für eine Verwendung mit dem CK5-Antikörper empfohlen.

### CK5 Ab-Blk Komponenten (K47014-###):

Beschreibung des Reagens	Artikelnummern der Komponenten	Größen (ml)
CK5-pHRP	H32014-(R###) (005, 010, 015)	5, 10, 15
ihc Blocker	C30005-(###ML) (005, 010, 015)	5, 10, 15

### Nur CK5-Antikörper (K32014-###):

Beschreibung des Reagens	Artikelnummern der Komponenten	Größen (ml)
CK5-pHRP	H32014-(R###) (015)	15

### Zusätzliche Reagenzien zur Verwendung mit CK5 pHRP-Antikörper:

Beschreibung des Reagens	Artikelnummern	Größen (ml)
ihc Blocker weltweit USA	K51001-(015) (ODER) K51002-(015, 030)	15 15, 30
ihc DAB-1:1-Kit	K50002-(###) (015, 030)	15, 30
ihc Magenta 1:1-Kit, USA	K50011-(###) (015, 030)	15, 30
DAB-Kit	K50001-(###) (015, 030)	15, 30

### Benötigte, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien:

Die folgenden Reagenzien bzw. Zubehörteile sind möglicherweise erforderlich, werden aber nicht mitgeliefert:

1. Fixativ für tiefgefrorene Schnitte (Aceton oder 10 % NBF§)
2. Positive und negative Kontrollgewebe
3. Objektträger für Lichtmikroskop, positiv geladen (erforderlich)
4. Küvetten, Bäder oder Bearbeitungsinstrumente
5. ihc Wash Buffer (PBS-T)
6. Pipettierer und Pipettenspitzen
7. Stoppuhr
8. Puffer zur Antigen-Rückgewinnung (bei Verwendung von FFPE-Gewebeproben)
9. Peroxid-Blocker(optional)
10. Instrumente, die für die Vorbehandlung von Gewebe verwendet werden, wie Wasserbad oder Dampfdruckpot oder Mikrowelle (bei Verwendung von FFPE-Gewebeproben)
11. Hämatoxylin
12. Xylen oder Xylen-Ersatz
13. Ethanol
14. Eindeckmedium
15. Deckgläschen
16. Lichtmikroskop (40–400x)

§ NBF – neutral gepuffertes Formalin

### Bulk-Reagenzien-Formulierungen von Novodix:

1. ihc Wash Buffer (PBS-T), (10 mM Phosphatpuffer, pH 7,2, 150 mM NaCl, 0,05%iges Tween-20).

- ihc Puffer zur Antigen-Rückgewinnung (10 mM Citratpuffer, pH 6,0, 0,02%iges Tween 20).

#### Lagerung und Handhabung:

Dieses Produkt ist bei 2–8 °C zu lagern und es ist bis zum Verfalldatum für den Gebrauch geeignet, wenn es bei dieser Temperatur gelagert wird. Nicht einfrieren. Dieses Produkt ist nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr zu verwenden, sofern von Novodiox keine Angaben über eine Datumsverlängerung zur Verfügung gestellt wurden. Wenn die Reagenzien unter anderen als den in der Packungsbeilage angegebenen Bedingungen gelagert werden, müssen diese vom Benutzer verifiziert werden.

#### Probenvorbereitung:

**Paraffineingebettete Gewebeschnitte:** Routinemäßig verarbeitete Gewebeproben, in 10%igem NBF fixiert, sind für die Anwendung vor der Paraffineinbettung geeignet. Siehe Referenzen (Kiernan, 1981; Sheehan & Hrapchak, 1980). Schwankende Ergebnisse können die Folge einer verlängerten Fixierung sein. Jeder Abschnitt sollte auf die geeignete Dicke zugeschnitten (ungefähr 4–5 µm) und auf einen positiv geladenen Glasobjektträger aufgebracht werden. Die Objektträger mit den Gewebeabschnitten können für mindestens eine Stunde, aber nicht länger als 24 Stunden im Ofen bei 58–60 °C ± 5 °C trocknen. Knochengewebe sollten vor der Verarbeitung der Gewebe entkalkifiziert werden, um das Schneiden der Gewebe zu erleichtern und die Mikrotomklingen nicht zu beschädigen (Kiernan, 1981; Sheehan & Hrapchak, 1980).

**Tiefgefrorene Gewebeabschnitte:** Tiefgefrorenes Gewebe wird auf die geeignete Dicke (ungefähr 5 µm) zugeschnitten und auf einen positiv geladenen Glasobjektträger platziert. Die Gewebeproben sollten direkt nach dem Zuschneiden für 1 bis 2 Minuten entweder mit analysenreinem Aceton oder in 10%igem NBF fixiert werden. Kurzes Trocknen an der Luft kann die Adhäsion des Gewebes am Objektträger fördern. Das analysenreine Aceton kann kühl gelagert werden, z. B. bei Kryostat-Temperaturen oder bei Raumtemperatur. Nach der Fixierung sind die Gewebeproben innerhalb weniger Minuten weiterzuverarbeiten oder sie können für einen ganzen Tag in PBS aufbewahrt werden.

**Behandlung der Gewebeproben vor der Färbung:** Die Vorbehandlung ist je nach Gewebe unterschiedlich und sollte entsprechend den Vorschlägen in den Abschnitten über das Färbeverfahren durchgeführt werden.

#### Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen:

- Vor Verwendung des Produkts müssen alle Gebrauchsanweisungen (IFUs) von Novodiox gelesen und verstanden worden sein.
- Das pHRP-Cytokeratin-5-Antikörperkonjugat ist vorverdünnt. Eine weitere Verdünnung kann die Signalintensität reduzieren oder die Wahrscheinlichkeit einer falsch-negativen Färbung erhöhen. Diese Empfehlungen dienen nur als Richtlinie. Die Laborleiter sollten ihre eigenen Verfahren und Qualitätsrichtlinien festlegen.
- Um bei der Arbeit mit tiefgefrorenem Gewebe optimale Ergebnisse zu erzielen, ist es von Vorteil, die Gewebeproben so schnell wie möglich nach der Extrahierung tiefzufrieren.
- Bei der Verwendung intensiver Gegenfärbungen mit Hämatoxylin, wie z. B. Gills, ist besonders vorsichtig vorzugehen und nach Möglichkeit die Inkubationsdauer zu verkürzen, da diese Färbungen dazu tendieren, die Antikörper-Färbung zu überdecken und unsichtbar zu machen.
- Bei der Handhabung der Reagenzien sind angemessene Vorsichtsmaßnahmen einzuhalten. Bei der Handhabung von Materialien müssen Schutzvorrichtungen wie Einmalhandschuhe und Laborkittel verwendet werden. Vor Gebrauch Sicherheitsdatenblätter (SDB) lesen.
- Kontakt der Reagenzien mit den Augen und Schleimhäuten vermeiden. Wenn die Reagenzien in Kontakt mit empfindlichen Bereichen kommen, diese mit großen Mengen Wasser abwaschen.
- Um eine Gewebeadhäsion sicherzustellen, sind geladene Objektträger zu verwenden.
- Patientenproben und alle Materialien, die in Kontakt mit Patientenproben kommen, sollten als biogefährliche Materialien behandelt und entsprechend entsorgt werden.
- Informationen über die empfohlenen Entsorgungsmethoden für biogefährliche und gefährliche chemische Abfälle sind bei den lokalen oder staatlichen Behörden erhältlich.
- Eine Inkubationsdauer und Temperaturen, die von den angegebenen abweichen, können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Benutzer muss solche Änderungen validieren.

- Bei der Zubereitung der Reagenzien sind technisch reine Chemikalien zu verwenden, wie z. B. Aceton und Wasser. Die Leistung und Stabilität der im Labor zubereiteten Reagenzien (bei 1X) sind vom Benutzer zu validieren.
- Eine mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu vermeiden.
- Die Fixierung ist ein wichtiger Teil des Protokolls und die Fixierdauer kann je nach ausgewählter Art der Fixierung, Art des Gewebes, wie z. B. Fett und andere Parameter, variieren. Im Allgemeinen wird eine Fixierdauer mit Aceton oder NBF von 1 bis 2 Minuten empfohlen. Die tiefgefrorenen Gewebeabschnitte kurz nach dem Zuschneiden in Fixierlösung legen. **Eine längere Exposition gegenüber Raum- oder Tiefkühltemperaturen kann die Zielepitope verändern.**
- Die Austrocknung der Objektträger beim Färbeverfahren sollte möglichst vermieden werden, um eine unerwünschte Hintergrundfärbung zu verhindern.

#### Färbeverfahren:

Allgemeine Anwendungshinweise:

- Vor Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur äquilibrieren. Vor der Anwendung den ihc Blocker und die pHRP-markierte Antikörperlösungen schwenken oder schütteln. **Keinen Vortexschüttler benutzen.** Die Menge der benötigten Chromogen-WS (100 µl pro Gewebeprobe) berechnen und Chromogen-WS **frisch** zubereiten. Siehe Gebrauchsanweisung.
- Die Gewebeproben im Rahmen der manuellen Waschschriffe vorsichtig und gründlich waschen. Direkte kräftige Waschflüssigkeitsstrahlen, die das delikate Gewebe schädigen oder zerschneiden könnten, sind zu vermeiden.
- Nach jedem manuellen Testschritt sind Flüssigkeitsüberstände auf den Objektträgern mit den Gewebeproben mit Papiertüchern zu entfernen. Überschüssige Restlösung kann nachfolgende Reagenzien verdünnen und dadurch eine Negativfärbung oder eine ungleichmäßige Einfärbung verursachen. Anwender können auch einen PAP-Pen verwenden, um sicherzustellen, dass die Reagenzien auf den gewünschten Gewebeproben bleiben.
- Zur Reduzierung des Hintergrundsignals nach dem Antikörper-Schritt gründlich waschen.
- Bei Geweben mit einem hohen Grad an Oxidaseaktivität, z. B. Gastrointestinal- oder Nierengewebe, ist ein zusätzlicher Blockierungsschritt mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> erforderlich, um Hintergrundfärbung zu minimieren.
- Das folgende Protokoll wurde für die Inkubation von ihc Blocker, Cytokeratin-5-pHRP und einer Novodiox Chromogen-WS bei Temperaturen zwischen 21° C und 30° C validiert. Wenn die Raumtemperatur unter 21° C liegt, können Anwender den markierten Antikörper für eine längere Zeit inkubieren (≤ 5 Minuten, je nach Temperatur). Mit einem auf 30° C auf der Oberfläche des Objektträgers eingestellten Gerät zum Aufwärmen von Objektträgern werden konsistente Ergebnisse erzielt.

#### Tiefgefrorene Gewebeabschnitte:

- Nach der Fixierung die Objektträger mit 1x ihc Wash Buffer abspülen und anschließend Flüssigkeitsüberstände mit einem Kimwipe® oder Papiertuch abwischen.
- Insgesamt 100 µl des ihc Blocker aufragen, sodass das gesamte Gewebe bedeckt ist, und bei Raumtemperatur für 1 Minute inkubieren. Anschließend überschüssigen ihc Blocker auf aufsaugenden Oberflächen entfernen, jedoch nicht die Objektträger abspülen.
- Insgesamt 100 µl des pHRP-Antikörpers aufragen, sodass das gesamte Gewebe bedeckt ist, und für 3 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Für eine dunklere Färbung kann die Inkubationsdauer auf maximal 5 Minuten insgesamt verlängert werden. Dann die Objektträger mit 1x ihc Wash Buffer abspülen und Flüssigkeitsüberstände abwischen.
- Insgesamt 100 µl der Chromogen-WS aufragen, sodass das gesamte Gewebe mit DAB bedeckt ist, und für 1 bis 3 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Die Anwender sollten die optimale Inkubationsdauer für ihre jeweilige Chromogen- oder Laborumgebung bestimmen. Dann die Objektträger entweder mit 1x ihc Wash Buffer oder technisch reinem Wasser abspülen und Flüssigkeitsüberstände abwischen.
- Eine Gegenfärbung hinzufügen. Die jeweilige Inkubationsdauer variiert je nach Rezeptur der Gegenfärbung. Dann die Objektträger mit Wasser abspülen und Flüssigkeitsüberstände abwischen.
- Wässrige Medien aufragen oder entsprechend dem üblichen Dehydrierungsprotokoll des Anwenders die Objektträger dehydrieren und dann Deckgläschen auflegen.



**Geschätzte Test-Zeit (10-minütiges IHC-Protokoll für tiefgefrorene Gewebeabschnitte):**

IhcDirect-Verfahren für tiefgefrorene Gewebe	Dauer in Minuten
Mit Aceton oder neutral gepuffertem Formalin fixieren	Start
- Mit <input type="text" value="ihc Wash"/> waschen, Flüssigkeitsüberstände entfernen	
Mit <input type="text" value="ihc Blocker"/>	1
- Durch Antupfen + Aufsaugen Flüssigkeitsüberstände entfernen	- - -
Novodiox ihcDirect-pHRP-Antikörper	3
- Gründlich mit <input type="text" value="ihc Wash"/> waschen	
- Durch Antupfen + Aufsaugen Waschpuffer entfernen	- - -
Novodiox Chromogen-Arbeitslösung (WS)	1-3
- Mit <input type="text" value="ihc Wash"/> oder deionisiertem Wasser waschen	
Gegenfärbung mit Hämatoxylin (je nach Konzentration)	2-45 Sek.
Mit Wasser waschen	
Dehydrierungs-/Eindeckmedium und Deckgläschen	Benutzerspez.
<b>Gesamt</b>	<b>~ 10</b>

**Paraffineingebettete Gewebe:**

- Entparaffinierung: Objektträger 3 Mal für jeweils 5 Minuten in Xylen einweichen. Danach jeweils 3 Minuten in 100%igem, 95%igem und 75%igem Ethanol. Dann Objektträger im Objektträgerbehälter zwei Mal jeweils 2 Minuten mit Leitungswasser waschen.
- Antigen-Rückgewinnung: Objektträger im Wasserbad in Antigen-Rückgewinnungspuffer im Objektträgerbehälter bei 96° C für 30 Minuten inkubieren, dann die Objektträger 30 Minuten lang auf Raumtemperatur abkühlen lassen. Objektträger zweimal jeweils 2 Minuten mit Leitungswasser spülen.
- (Optional) Blockieren des Gewebes mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Objektträger in Objektträgerbehälter in 3%igem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> einweichen, 10 Minuten stehen lassen. Objektträger zweimal mit Leitungswasser spülen und dann einmal für 2 Minuten mit PBS-T im Objektträgerbehälter waschen.
- Insgesamt 100 µl des ihc Blocker auftragen, sodass das gesamte Gewebe bedeckt ist, und bei Raumtemperatur für 15 Minuten inkubieren. Den ihc Blocker so weit wie möglich entfernen, aber die Objektträger nicht mit PBS-T oder Wasser spülen.
- 100 µl des pHRP-markierten anti-humanen Cytokeratin-5-Antikörpers auf die Objektträger auftragen, sodass das gesamte Gewebe bedeckt ist, und für 15-30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Die Objektträger drei Mal jeweils für 2 Minuten mit PBS-T im Objektträgerbehälter spülen. Hinweis: Wenn nicht länger inkubiert wird, Objektträger in eine Feuchtkammer überführen, um Verdampfung zu verhindern.
- Insgesamt 100 µl der Chromogen-WS auftragen, sodass das gesamte Gewebe bedeckt ist, und für 3 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Objektträger zweimal jeweils 2 Minuten mit Leitungswasser spülen.
- Gegenfärbung: Hämatoxylin zufügen und für 1 Minute bei Raumtemperatur inkubieren. Zweimal jeweils 2 Minuten, mit Leitungswasser spülen.
- Dehydrierung: Objektträger in folgender Reihenfolge einweichen: 75%iges Ethanol für 3 Minuten, 95%iges Ethanol für 3 Minuten, 100%iges Ethanol für 3 Minuten und zweimal Xylen, jeweils für 5 Minuten.
- Deckgläschen applizieren: Einen Tropfen des permanenten Eindeckmediums auf beide Seiten des Objektträger und Deckgläschen auftragen, dann Deckgläschen auflegen.

**Verfahren der Qualitätskontrolle:**

Gleichzeitig mit den Patientenproben sollte ein Durchlauf von positiven und negativen Kontrollen stattfinden.

**Positive Gewebekontrolle:** Die empfohlenen positiven Kontrollgewebe für diesen Antikörper sind bekannte Cytokeratin-5-positive Gewebe. Die Färbung ist eine zytoplasmatische Färbung. In jeden Färbelauf sollte für jeden Satz an Testbedingungen eine positive Gewebekontrolle eingeschlossen werden. Als Kontrolle können zuvor verwendete Gewebeproben, die tiefgefroren oder frisch entnommen wurden, und in einigen Fällen Eigengewebe einer Person verwendet werden.

Die Gewebe, die für die positive Kontrolle verwendet werden, sollten aus Patientenproben mit gut beschriebener niedriger Aktivität des positiven Targets, die eine schwache positive Färbung erzeugt, ausgewählt werden. Bekanntermaßen positive Kontrollgewebe sollten nur für die Überwachung der korrekten Performance der verarbeiteten Gewebe und Testreagenzien verwendet werden und nicht als Hilfsmittel bei der Erstellung einer spezifischen Diagnose der Patientenproben. Falls die positiven Kontrollgewebe keine positive Färbung aufweisen, sollten die für die Patientenproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden.

**Negative Gewebekontrolle:** Dasselbe Gewebe, das für die positive Kontrolle verwendet wurde, kann als negatives Kontrollgewebe verwendet werden. Aufgrund der Vielfalt unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorliegen, sind Stellen, die eine interne Negativkontrolle darstellen, vorhanden. Jedoch sollte dies vom Benutzer verifiziert werden. Die Komponenten ohne Färbung sollten das Fehlen einer spezifischen Färbung anzeigen und auf eine nicht spezifische Hintergrundfärbung deuten. Falls eine spezifische Färbung (falsch-positive Färbung) an Stellen des negativen Kontrollgewebes auftritt, müssen die mit den Patientenproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden. Als negative Gewebekontrollen können Nieren- und Skelettmuskelgewebe verwendet werden.

**Fehlerbehebung:**

Falls am Kontrollgewebe oder den Patientenproben ein unerwartetes Färbemuster auftritt, sollte Folgendes in Betracht gezogen werden:

- Keine Färbung:** Falls auf dem Objektträger der positiven Kontrolle keine Färbung nachgewiesen wird, bitte verifizieren, ob (1) die Chromogen-WS frisch und korrekt zubereitet wurde, (2) Reagenzien in der richtigen Reihenfolge aufgetragen wurden, (3) der pHRP-markierte Antikörper tatsächlich zugegeben wurde, und (4) beim FFPE-Gewebe Entparaffinierung und Antigen-Rückgewinnung angemessen durchgeführt wurden. Alle erforderlichen Korrekturmaßnahmen durchführen und dann das Verfahren wiederholen.
- Schwaches Signal oder geringe Färbung:** Bitte überprüfen, ob (1) Verfalldaten der Reagenzien nicht abgelaufen sind, (2) die Raumtemperatur der Testumgebung unter 21° C lag oder ein auf 30° C eingestelltes Gerät zum Aufwärmen von Objektträgern verwendet wurde, (3) die Chromogen-WS frisch und korrekt zubereitet wurde, (4) nicht zu viel ihc Wash-Lösung auf dem Objektträger verblieben ist, wodurch das nächste Reagens verdünnt werden würde, und (5) beim FFPE-Gewebe Entparaffinierung und Antigen-Rückgewinnung zureichend durchgeführt wurden. Alle erforderlichen Korrekturmaßnahmen durchführen und das Verfahren wiederholen. Bei Verwendung eines DAB-Chromogens ist alternativ die Verwendung eines anderen Färbemittels, wie z. B. ihc Magenta 1:1, in Betracht zu ziehen, um eine leuchtendere Färbung zu erreichen. Zudem haben einige Personen eventuell natürlicherweise eine geringere Exprimierung bestimmter Antigene. In diesen Fällen können Anwender die Inkubationsdauer für Antikörper um 1 bis 2 Minuten verlängern.
- Starke Hintergrundfärbung:** Mögliche Gründe umfassen (1) unzureichendes Waschen, (2) ihc Blocker nicht angewendet oder nach der Anwendung nicht ausgewaschen, (3) Proben eingetrocknet, (4) verlängerte Inkubation mit Chromogen, (5) verlängerte Inkubation mit pHRP-markiertem Antikörper und (6) Proben enthalten hohe Konzentration an endogener Peroxidase, was einen zusätzlichen Blockierungsschritt (siehe Abschnitt „Färbeverfahren für paraffineingebettete Gewebe“) erforderlich macht. Alle erforderlichen Korrekturmaßnahmen durchführen und das Verfahren wiederholen.

Wenn auf den Kontrollgeweben oder Patientenproben ein unerwartetes Färbemuster festgestellt wird, das durch Schwankungen bei den Laborverfahren nicht erklärt werden kann oder wenn ein Problem mit dem Antikörper vermutet wird, wenden Sie sich unverzüglich an den Technischen Support von Novodiox oder an Ihren Lieferanten vor Ort. Rufen Sie innerhalb der USA und Kanada an unter 1 (888) 439-2716 Durchw. 2 oder 1 (510) 342-3043 Durchw. 2 an.



### Voraussichtliche Ergebnisse:

Dieser Antikörper sorgt für eine intensive Färbung, z. B. in Braun, am Ort der Bindung sowie, falls Zellen mit Cytokeratin-5-Expression vorhanden sind, eine Färbung ohne Hintergrundfärbung. Falls keine Zellen mit Cytokeratin-5-Expression vorhanden sind, erfolgt keine Färbung mit einem chromogenen Färbemittel. Die Auswertung des Färbergebnisses liegt einzig in der Verantwortung des Benutzers.

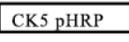
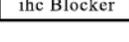
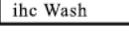
### Allgemeine Beschränkungen:

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der eine spezialisierte Ausbildung auf den folgenden Gebieten erfordert: Auswahl der entsprechenden Reagenzien; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung des IHC-Objektträgers sowie Auswertung der Färbergebnisse. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Schneiden oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Abweichende Ergebnisse können auf unterschiedliche Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder inhärente Unregelmäßigkeiten im Gewebe selbst zurückzuführen sein (Nadji M, Morales AR. 1983).

Der Hersteller liefert diese Antikörper/Reagenzien in optimaler Verdünnung zur Verwendung gemäß den mitgelieferten Anweisungen für IHC auf vorbereiteten Gewebeabschnitten. Jede Abweichung von den empfohlenen Testverfahren kann die genannten zu erwartenden Ergebnisse ungültig machen; es müssen geeignete Kontrollen eingesetzt und dokumentiert werden. Benutzer, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, müssen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse unter diesen Umständen übernehmen.

### Leistungsmerkmale:

Die Leistung des ihcDirect-Cytokeratin-5-pHRP-Testkits wurde sowohl an tiefgefrorenen Gewebeproben als auch FFPE-Gewebeabschnitten bestimmt. NovodiAx hat Studien durchgeführt, um die Leistung der Antikörperkonjugate sowie der zugehörigen Reagenzien und zusätzlichen Hilfsstoffe zu untersuchen. Die Antikörper und Systeme waren empfindlich und weisen eine spezifische Bindung zum Antigen von Interesse auf, wobei nur eine minimale oder keine Bindung von nicht spezifischen Geweben oder Zellen stattfindet. Die Antikörper von NovodiAx und die zugehörigen Reagenzien zeigten bei Anwendung im Einzellauf, zwischen den Läufen und zwischen den Chargen reproduzierbare und konsistente Ergebnisse. Diese Produkte erwiesen sich in den auf den Etiketten angegebenen Zeiträumen sowohl bzgl. der standardmäßigen Echtzeitmethode als auch der beschleunigten Methode als stabil. NovodiAx gewährleistet Produktqualität durch Testen jeder einzelnen Charge der Materialien in regelmäßigen Abständen und durch Überwachungsprogramme.

Symbolschlüssel für ihcDirect-Cytokeratin 5			
 IVD	In-vitro-Diagnostikum	 CK5 pHRP	pHRP-CK5-Antikörperkonjugat
 REF	Bestellnummer	 ihc Blocker	Blockierungsreagens
	Verwendbar bis: JJJJ-MM-TT	 ihc Wash	ihc Wash Buffer
	Gebrauchsanweisung beachten		Hersteller
 LOT	Chargenbezeichnung	 EC REP	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Enthält ausreichend für < n > Tests		CE-Kennzeichen
	Temperaturbegrenzung		

### Zugriff auf Gebrauchsanweisungen:

Übersetzungen der aktuellsten elektronischen Versionen der Gebrauchsanweisungen finden Sie auf unserer Website unter <https://www.novodiAx.com/literature/instructions-for-use-ifu/>. Gedruckte Exemplare der Gebrauchsanweisungen können Sie vom technischen Support von NovodiAx oder Ihrem Vertriebshändler vor Ort erhalten.

### Bibliographie:

1. Moll R, et al. Expression of keratin 5 as a distinctive feature of epithelial and biphasic mesotheliomas. An immunohistochemical study using monoclonal antibody. Virchows Arch B Cell Pathol. 1989; 58:129-145.
2. Ordonez NG. What are the current best immunohistochemical markers for the diagnosis of epithelioid mesothelioma? A review and update. Human Pathology. 2007; 38:1-16.
3. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
4. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
5. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med,1983;14:767-771.

