

**FLEX**  
**Monoclonal Mouse**  
**Anti-Human**  
**Carcinoembryonic Antigen**  
 Clone II-7  
**Ready-to-Use**  
 (Dako Omnis)  
**Code GA622**

**ENGLISH**

<b>Intended use</b>	For in vitro diagnostic use. FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen, Clone II-7, Ready-to-Use (Dako Omnis), is intended for use in immunohistochemistry (IHC) together with the Dako Omnis instrument. This antibody labels the carcinoembryonic antigen (CEA)-positive glycocalyx surface of gastrointestinal. Results aid in the classification of colon carcinoma (1), secretory meningioma, (2) and medullary carcinoma of the thyroid (3). 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.
<b>Summary and explanation</b>	CEA is an oncofetal heterogeneous family of related glycoproteins (4) designated CD66 (5). The family consists of more than 17 expressible closely related genes, belonging to the immunoglobulin superfamily (5). CEA is normally present during fetal life, but occurs at low concentrations in adults, and circulates in high concentrations in patients with certain malignancies, particularly epithelial tumors (3). The protein part of CEA consists of a single polypeptide chain, containing a 107 amino acid NH-terminal domain and three highly homologous domains of 178 amino acids. CEA is secreted into the glycocalyx surface of gastrointestinal cells and hence it may be found in carcinomas from the gastrointestinal tract (6) – e.g. adenocarcinomas of colon, stomach and pancreas. In addition, CEA may be found in adenocarcinomas of lung and breast (7). Refer to Dako <i>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.
<b>Reagent provided</b>	Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide. <u>Clone:</u> II-7 (3). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa.
<b>Immunogen</b>	Purified human CEA from liver metastasis of lung adenocarcinoma (4).
<b>Specificity</b>	In ELISA, the antibody reacts with CEA preparations from both colo-rectal carcinomas, lung adenocarcinomas and the colon carcinoma cell line LS 174T, whereas the antibody does not cross-react with isolated CEA-related antigens, e.g. NCA-55, NCA-95, NCA-160 and BGP 1 (4). Based on ELISA, using reduced, carboxymethylated and Smith degraded CEA, the antibody is predicted to react with a conformation dependent epitope, in which the carbohydrate structures of the CEA glycoprotein are involved (4). Using solid-phase competitive immunoassays, monoclonal antibodies to CEA have been classified into five essentially non-interacting epitope groups called GOLD 1-5. Monoclonal antibodies with a high degree of CEA specificity generally belong to epitope groups GOLD 1 or 3. Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen, Clone II-7, belongs to epitope group GOLD 1 (8).
<b>Precautions</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>For in vitro diagnostic use.</li> <li>For professional users.</li> <li>This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.</li> <li>As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.</li> <li>Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.</li> <li>Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.</li> </ol>
<b>Storage</b>	Store at 2-8 °C. During storage the cap should be closed. Do not use after expiration date stamped on vial. Onboard stability is 280 hours. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

**Staining procedure overview\***

Step		Comments
Fixation/embedding	Formalin-fixed, paraffin-embedded	Onboard deparaffinization
Pre-treatment	EnVision FLEX, High pH (Code GV804)	30 min HIER
Antibody	Ready-to-use	25 min incubation
Negative Control	FLEX Negative Control, Mouse (Code GA750)	25 min incubation
Visualization	EnVision FLEX (Code GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Code GV821)	Block: 3 min; Link: 10 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Counterstain	Hematoxylin (Code GC808)	3 min incubation
Control Tissue	Tonsil, colon	Cytoplasmic and membranous staining
Slides	FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020)	Recommended for greater adherence of tissue sections to glass slides
Mounting	Non-aqueous, permanent mounting required	After staining, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method
Instrumentation	Dako Omnis	Reagents are provided in instrument-specific vials

\*The user must always read the package insert for detailed instructions of the staining procedure and handling of the product.

<b>Specimen preparation</b>	<u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of 4 µm. <u>Pre-treatment:</u> Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Pretreating tissues with HIER using diluted EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), Code GV804, is recommended. Deparaffinization, rehydration and target retrieval are performed onboard Dako Omnis. Please refer to Dako Omnis Basic User Guide. Dako Omnis ensures that the tissue sections do not dry out during the pre-treatment process or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides, Code K8020 is recommended.
<b>Staining procedure</b>	<u>Program:</u> The staining steps and incubation times are pre-programmed into the Dako Omnis software. Please refer to the Dako Omnis Basic User Guide for detailed instructions on loading slides and reagents. If the protocols are not available in the Dako Omnis system, please contact Dako Technical Support. All incubation steps are performed at 32 °C onboard Dako Omnis. <u>Visualization:</u> The recommended visualization system is EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), Code GV800 in combination with EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Dako Omnis), Code GV821. The visualization is performed onboard Dako Omnis.

**Counterstaining:** The recommended counterstain is Hematoxylin (Dako Omnis), Code GC808. The counterstaining is performed onboard Dako Omnis.  
**Mounting:** After staining onboard Dako Omnis the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.  
**Quality control:** Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include colon and tonsil and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in the "Performance characteristics" section. The recommended negative control reagent is FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), Code GA750.

**Staining interpretation**

Cells labeled by the antibody display cytoplasmic and membranous staining. In tissue sections of normal colon, CEA is mainly localized at the apical border of the epithelial cells. In tissue sections of colon carcinoma, CEA is mainly localized at the apical border of glandular structures, whereas cytoplasmic labeling predominates in more solid parts of the tumor.

**Performance characteristics**

**Normal tissues:** The antibody labels normal colon. Epithelial cells of the colon mucosa show a moderate to strong staining reaction at the luminal surface and the glycocalyx. In tonsil, the squamous epithelial cells show focally a weak to moderate cytoplasmic staining reaction.  
**Abnormal tissues:** The antibody labeled 6/6 colon carcinomas, 2/2 gall bladder carcinomas and 2/3 carcinomas of the Vater-ampulla. In addition, the antibody labeled 31/31 secretory meningiomas (2). Testing of the antibody on medullary carcinoma of the thyroid showed immunoreaction. The antibody labeled 9/11 cases of residual pulmonary adenocarcinomas with no reactivity in nine mesotheliomas (9).

**FRANÇAIS**

**Utilisation prévue**

Pour utilisation diagnostique in vitro.  
 L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen, Clone II-7, Ready-to-Use (Dako Omnis) est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC) avec l'instrument Dako Omnis. Cet anticorps marque la surface du glycocalyx des cellules gastro-intestinales, positive pour l'antigène carcino-embryonnaire (ACE). Les résultats obtenus facilitent la classification des carcinomes du côlon (1), des méningiomes sécrétoires (2) et des carcinomes médullaires de la thyroïde (3). 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 histo-chimiques non immunologiques.

**Résumé et explication**

L'ACE est une famille hétérogène oncofœtale de glycoprotéines (4) apparentées désignées sous le nom de CD66 (5). Cette famille comprend plus de 17 gènes d'expression étroitement apparentés, appartenant à la superfamille des immunoglobulines (5). L'ACE est normalement présent pendant la vie fœtale. Cependant, il est retrouvé à de faibles concentrations chez l'adulte et circule à de fortes concentrations chez les patients atteints de certaines tumeurs, en particulier les tumeurs épithéliales (3). La partie protéique de l'ACE consiste en une seule chaîne polypeptidique, contenant un domaine NH-terminal de 107 acides aminés et trois domaines hautement homologues de 178 acides aminés. L'ACE est sécrété à la surface du glycocalyx des cellules gastro-intestinales et peut donc s'observer dans les carcinomes du tractus gastro-intestinal (6) – par exemple les adénocarcinomes du côlon, de l'estomac et du pancréas. De plus, l'ACE peut s'observer dans les adénocarcinomes du poumon et du sein (7).  
 Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohisto-chimique) 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.

**Réactif fourni**

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.  
**Clone :** II-7 (3). **Isotype :** IgG1, kappa.

**Immunogène**

ACE humain purifié à partir de métastases hépatiques provenant d'un adénocarcinome pulmonaire (4).

**Spécificité**

Lors d'un test ELISA, l'anticorps réagit aux préparations d'ACE provenant de carcinomes colorectaux, d'adénocarcinomes pulmonaires et aussi de la lignée cellulaire LS 174T issue d'un carcinome du côlon, alors que ce même anticorps ne présente pas de réaction croisée avec des antigènes isolés apparentés à l'ACE, par exemple le NCA-55, le NCA-95, le NCA-160 et le BGP I (4). Selon le test ELISA, utilisant un ACE réduit, carboxyméthylé et ayant été soumis à une méthode de dégradation de Smith, l'anticorps devrait réagir à un épitope dépendant de la conformation, dans lequel les structures hydratées de carbone de la glycoprotéine ACE sont impliquées (4).  
 Lors de l'utilisation de tests immunologiques par compétition en phase solide, les anticorps monoclonaux anti-ACE ont été classés en cinq groupes d'épitopes essentiellement non interactifs nommés GOLD 1 à 5. Les anticorps monoclonaux ayant un haut degré de spécificité avec l'ACE appartiennent généralement aux groupes d'épitopes GOLD 1 ou 3. L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen, Clone II-7 appartient au groupe d'épitopes GOLD 1 (8).

**Précautions d'emploi**

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

**Conservation**

Conserver entre 2 et 8 °C. Pendant la conservation, le bouchon doit être fermé. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. La stabilité sur l'appareil est de 280 heures. Le temps passé dans l'appareil est suivi par le logiciel Dako Omnis. 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 de laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

**Vue d'ensemble de la procédure de coloration\***

Étape		Commentaires
Fixation/inclusion	Fixation au formol, inclusion en paraffine	Déparaffinage intégré
Prétraitement	EnVision FLEX, High pH (réf. GV804)	HIER de 30 minutes
Anticorps	Prêt à l'emploi	Incubation de 25 min
Contrôle négatif	FLEX Negative Control, Mouse (réf. GA750)	Incubation de 25 min
Visualisation	EnVision FLEX (réf. GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (réf. GV821)	Bloc : 3 min ; Link : 10 min ; Polymère : 20 min ; Chromogène : 5 min
Contre-coloration	Hematoxylin (réf. GC808)	Incubation de 3 min
Tissu de contrôle	Amygdale, côlon	Coloration membranaire et cytoplasmique
Lames	FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020)	Recommandées pour une meilleure adhérence des coupes de tissus aux lames de verre
Montage	Milieu de montage permanent non aqueux requis	Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent
Appareillage	Dako Omnis	Les réactifs sont fournis dans des flacons propres à l'appareil

\*L'utilisateur doit toujours lire la notice pour obtenir des instructions détaillées sur la procédure de coloration et sur la manipulation du produit.

**Préparation des échantillons**

**Coupes en paraffine :** L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être de 4 µm.  
**Prétraitement :** Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine par restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire. Il est recommandé de prétraiter les tissus par la méthode HIER à l'aide de la solution diluée EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), réf. GV804. Le déparaffinage, la réhydratation et la restauration des cibles sont effectués sur l'appareil Dako Omnis. Se reporter au Guide d'utilisation de base du Dako Omnis.

Le Dako Omnis s'assure que les coupes de tissus ne sèchent pas lors du prétraitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes tissulaires sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020).

**Procédure de coloration**

**Programme :** Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel Dako Omnis. Se reporter au Guide d'utilisation de base du Dako Omnis pour plus de détails sur le chargement des lames et des réactifs. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur le système Dako Omnis, contacter l'assistance technique Dako. Toutes les étapes d'incubation sont effectuées à 32 °C sur l'appareil Dako Omnis.

**Visualisation :** Le système de visualisation recommandé est le système EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), réf. GV800, associé au système EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Dako Omnis), réf. GV821. La visualisation est effectuée sur l'appareil Dako Omnis.

**Contre-coloration :** Le contre-colorant recommandé est le produit Hematoxylin (Dako Omnis), réf. GC808. La contre-coloration est effectuée sur l'appareil Dako Omnis.

**Montage :** Après la coloration sur l'appareil Dako Omnis, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'une méthode de montage permanent.

**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. Le tissu de contrôle positif doit comprendre le côlon et l'amygdale et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que ceux décrits pour ces tissus à la section "Performances". Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), réf. GA750.

**Interprétation de la coloration**

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique et membranaire. Dans les coupes de tissus de côlon sain, l'ACE est principalement localisé au niveau de la bordure apicale des cellules épithéliales. Dans les coupes de tissus de carcinome du côlon, l'ACE est principalement localisé au niveau de la bordure apicale des structures glandulaires, alors qu'un marquage cytoplasmique est prédominant dans certaines parties plus solides de la tumeur.

**Performances**

**Tissus sains :** L'anticorps marque un côlon sain. Les cellules épithéliales de la muqueuse du côlon indiquent une coloration modérée à forte sur la surface luminale et la surface du glycocalyx. Dans l'amygdale, les cellules épithéliales squameuses indiquent de manière focalisée une coloration cytoplasmique faible à modérée.

**Tissus anormaux :** L'anticorps a marqué 6 cas sur 6 de carcinomes du côlon, 2 cas sur 2 de carcinomes de la vésicule biliaire et 2 cas sur 3 de carcinomes de l'ampoule de Vater. De plus, l'anticorps a marqué 31 cas sur 31 de méningiomes sécrétoires (2). Le test de l'anticorps sur le carcinome médullaire de la thyroïde présente une immunoréaction. L'anticorps a marqué 9 cas sur 11 d'adénocarcinomes pulmonaires résiduels. Ces derniers ne montrent aucune réactivité dans neuf mésothéliomes (9).

**DEUTSCH**

**Verwendungszweck**

Zur In-vitro-Diagnostik.  
FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen, Clone II-7, Ready-to-Use (Dako Omnis) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) in Verbindung mit dem Dako Omnis Gerät bestimmt. Dieser Antikörper markiert die CEA (carcinoembryonales Antigen)-positive Glykokalixoberfläche von gastrointestinalen Zellen. Die Ergebnisse tragen zur Klassifizierung von Dickdarmkarzinomen (1), sekretorischen Meningiomen (2) und medullären Schilddrüsenkarzinomen (3) bei. Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden 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**

Beim CEA handelt es sich um eine heterogene onkofetale Familie verwandter Glykoproteine (4) mit der Bezeichnung CD66 (5). Die Familie besteht aus mehr als 17 exprimierbaren, eng verwandten Genen, die der Superfamilie der Immunglobuline angehören (5). CEA tritt normalerweise während der Fötalphase auf und ist in geringen Konzentrationen bei Erwachsenen nachweisbar. Bei Patienten mit bestimmten Malignomen, insbesondere mit epithelialen Tumoren, zirkuliert es jedoch in hohen Konzentrationen (3). Der Proteinanteil von CEA besteht aus einer einzelnen Polypeptidkette, die eine N-terminale Domäne mit 107 Aminosäuren und drei stark homologe Bereiche mit 178 Aminosäuren enthält. CEA wird in die Glykokalixoberfläche von gastrointestinalen Zellen sezerniert und kann daher in Karzinomen im Magen-Darm-Trakt (6) – wie z. B. Adenokarzinomen im Dickdarm, Magen und Pankreas – gefunden werden. Außerdem kann CEA in Adenokarzinomen der Lunge und der Brust auftreten (7).

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, Gewebepreparation, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

**Geliefertes Reagenz**

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0.015 mol/L Natriumazid enthält.  
**Klon:** II-7 (3). **Isotyp:** IgG1, Kappa.

**Immunogen**

Gereinigtes menschliches CEA aus der Lebermetastase eines Lungenadenokarzinoms (4).

**Spezifität**

Beim ELISA-Test reagiert der Antikörper mit CEA-Präparationen aus kolorektalen Karzinomen, Lungenadenokarzinomen sowie der Dickdarmkarzinom-Zelllinie LS 174T, während der Antikörper keine Kreuzreaktion mit isolierten CEA-verwandten Antigenen, wie z. B. NCA-55, NCA-95, NCA-160 und BGP 1, zeigt (4). Auf Grundlage von ELISA-Tests mit reduziertem, carboxymethyliertem CEA nach Smith-Abbau lässt sich vorhersagen, dass der Antikörper mit einem konformationsabhängigen Epitop reagiert, an dem die Kohlenhydratstrukturen des CEA-Glykoproteins beteiligt sind (4).

Mithilfe von kompetitiven Festphasen-Immunoassays wurden monoklonale Antikörper gegen CEA in fünf prinzipiell nicht miteinander interagierende Epitopgruppen mit der Bezeichnung GOLD 1-5 eingeteilt. Monoklonale Antikörper mit einer größeren CEA-Spezifität gehören im Allgemeinen der Epitopgruppe GOLD 1 oder 3 an. Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen, Clone II-7, zählt zur Epitopgruppe GOLD 1 (8).

**Vorsichtsmaßnahmen**

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN<sub>3</sub>), 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. Während der Lagerung ist der Deckel geschlossen zu halten. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Die Stabilität im Gerät beträgt 280 Stunden. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. 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.

**Übersicht über die Färbeverfahren\***

Schritt		Anmerkungen
Fixierung/Einbettung	Fixiert in Formalin, eingebettet in Paraffin	Entparaffinierung im Gerät
Vorbereitung	EnVision FLEX, High pH (Code-Nr. GV804)	30 min HIER
Antikörper	Gebrauchsfertig	25 min Inkubation
Negativkontrolle	FLEX Negative Control, Mouse (Code-Nr. GA750)	25 min Inkubation
Detektionssystem	EnVision FLEX (Code-Nr. GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Code-Nr. GV821)	Block: 3 min; Link: 10 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Gegenfärbung	Hematoxylin (Code-Nr. GC808)	3 min Inkubation
Kontrollgewebe	Mandeln, Dickdarm	Färbung von Zytoplasma und Membran

Objektträger	FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020)	Empfohlen zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern
Eindeckung	Nichtwässriges, permanentes Eindeckmedium erforderlich	Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf den Objektträger aufgebracht werden
Geräte	Dako Omnis	Reagenzien werden in gerätespezifischen Fläschchen geliefert

\* Der Anwender muss stets die Packungsbeilage lesen, um sich über die detaillierten Anweisungen für das Färbeverfahren und die Handhabung des Produkts zu informieren.

#### Gewebevorbereitung

**Paraffinschnitte:** Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

**Vorbehandlung:** Es ist eine Vorbehandlung der formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitte durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) erforderlich. Die HIER-Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), Code-Nr. GV804, wird empfohlen. Entparaffinierung, Rehydrierung und Demaskierung werden im Dako Omnis Gerät selbst durchgeführt. Weitere Informationen finden Sie im Dako Omnis Benutzerhandbuch.

Dako Omnis gewährleistet, dass die Gewebeschnitte während der Vorbehandlungsprozedur und während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

#### Färbeverfahren

**Programm:** Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Dako Omnis Software vorprogrammiert. Detaillierte Anweisungen zum Laden der Objektträger und Reagenzien sind dem Dako Omnis Benutzerhandbuch zu entnehmen. Wenn die Protokolle im Dako Omnis System nicht verfügbar sind, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Dako. Alle Inkubationsschritte sind bei 32 °C im Dako Omnis Gerät durchzuführen.

**Detektionssystem:** Das empfohlene Detektionssystem ist EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), Code-Nr. GV800, in Verbindung mit EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Dako Omnis), Code-Nr. GV821. Die Detektion wird im Dako Omnis Gerät durchgeführt.

**Gegenfärbung:** Die empfohlene Gegenfärbung ist Hematoxylin (Dako Omnis), Code-Nr. GC808. Die Gegenfärbung wird im Dako Omnis Gerät durchgeführt.

**Eindecken:** Nach dem Färben im Dako Omnis Gerät müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit einer permanenten Eindeckmethode auf den Objektträger aufgebracht werden.

**Qualitätskontrolle:** Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte Darm- und Mandelgewebe enthalten, und die Zellen/Strukturen sollten die für dieses Gewebe im Abschnitt „Leistungseigenschaften“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativkontrollreagenz ist FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), Code-Nr. GA750.

#### Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine zytoplasmatische und eine Membranfärbung auf. In Gewebeschnitten eines normalen Dickdarms wird CEA vorwiegend an der apikalen Grenze der Epithelzellen gefunden. In Gewebeschnitten von Darmkarzinomen wird CEA vorwiegend am apikalen Rand von Drüsenstrukturen gefunden, während die zytoplasmatische Färbung in festeren Bestandteilen des Tumors überwiegt.

#### Leistungseigenschaften








**Normalgewebe:** Der Antikörper markiert gesundes Dickdarmgewebe. Epithelzellen der Darmschleimhaut weisen eine mäßige bis starke Färbereaktion an der luminalen Oberfläche und der Glykokalix auf. In Mandelgewebe weisen die Plattenepithelzellen fokal eine schwache bis mäßige zytoplasmatische Färbereaktion auf.

**Anormales Gewebe:** Der Antikörper markierte 6 von 6 Dickdarmkarzinomen, 2 von 2 Gallenblasenkarzinomen und 2 von 3 Karzinomen der Vater-Ampulle. Außerdem markierte der Antikörper 31 von 31 sekretorischen Meningiomen (2). Tests des Antikörpers am medullären Schilddrüsenkarzinom zeigten eine Immunreaktivität. Der Antikörper markierte 9 von 11 Fällen von Lungenadenokarzinomen ohne Reaktivität bei neun Mesotheliomen (9).

#### References / Bibliographie / Literaturnachweise

- Zoubir F, Zeromski J, Sikora J, Szmaja J, Hedin A, Hammarström S. Tumor specificity of monoclonal antibodies to carcinoembryonic antigen. *Tumor Biol* 1990;11:5-19.
- Probst-Cousin S, Villagran-Lillo R, Lahl R, Bergmann M, Schmid KW, Gullotta F. Secretory meningioma. Clinical, histologic, and immunohistochemical findings in 31 cases. *Cancer* 1997;79:2003-15.
- Uribe M, Fenoglio-Preisler CM, Grimes M, Feind C. Medullary carcinoma of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol* 1985;9:577-94.
- Hedin A, Zoubir F, Lundgren T, Hammarström S. Epitope specificity and cross-reactivity pattern of a large series of monoclonal antibodies to carcinoembryonic antigen. *Mol Immunol* 1986;23:1053-61.
- Skubitz KM, Micklem K, van der Schoot E. M14. CD66 and CD67 cluster workshop report. In: Schlossman SF et al., eds. *Leucocyte Typing V. White Cell Differentiation Antigens*. Oxford-New York-Tokyo: Oxford University Press, 1995:889-99.
- Larsson Å, Ghosh R, Hammarström S. Relative positions of some epitopes on carcinoembryonic antigen. *Cancer Immunol Immunother* 1989;30:92-6.
- Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M. *Manual of diagnostic antibodies for immunohistology*. 1<sup>st</sup> ed. London: Oxford University Press; 1999. p. 37-8.
- Hammerstrom S, Shively JE, Paxton RJ, Beatty BG, Larsson Å, Ghosh R, et al. Antigenic sites in carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 1989;49:4852-8.
- Abutaily AS, Addis BJ, Roche WR. Immunohistochemistry in the distinction between malignant mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma: a critical evaluation of new antibodies. *J Clin Pathol* 2002;55:662-68.

#### Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Code du lot Chargenbezeichnung		
	Consult instructions for use Consulter le mode d'emploi Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser avant Verwendbar bis		

Revision / Révision / Revision 2018.11