

Monoclonal Mouse
Anti-Human CD15/FITC
 Clone C3D-1
Code No./ Code/ Code-Nr. F 0830

ENGLISH	
Intended use	For in vitro diagnostic use. F 0830 is intended for use in flow cytometry. In flow cytometry, anti-CD15 is considered essential for the initial evaluation of acute myeloid leukaemias together with a panel of other antibodies (1-3). Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.
Synonyms for antigen	Lewis X, X-hapten, lacto- <i>N</i> -neo-fucopentaose III (LNFP III), stage-specific embryonic antigen (SSEA-1), 3-FAL and 3-FL (4,5).
Introduction	CD15 is a carbohydrate antigen carried by both glycoproteins and glycolipids. The structure of the antigen was determined to be Gal β 1-4[Fuc α 1-3]GlcNAc β 1-3Gal β 1-R. CD15 serves as a ligand for selectins and might also be involved in cell adhesion through a direct Lewis X-Lewis X interaction (5). CD15 is expressed mainly on mature granulocytes and monocytes but also on immature bone marrow cells and on leukaemic cells of the myelo-monocytic lineage (5). Additionally, CD15 is expressed in rare cases of acute lymphoblastic leukaemias (ALL) (5,6), and on adenocarcinoma cells and immature epithelial cells (5).
Reagent provided	The Anti-CD15 conjugate, F 0830, has been produced from a purified monoclonal mouse antibody. The conjugate is provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN ₃ , pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 μ L of conjugate for up to 10 ⁶ leucocytes from normal human peripheral blood). <u>Isotype:</u> IgM, kappa. <u>Conjugate concentration mg/L:</u> See label on vial.
Immunogen	Purified human neutrophils (7).
Specificity	Anti-CD15, C3D-1, was included in the Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD15 (5). Anti-CD15, C3D-1, reacts with peripheral blood granulocytes and monocytes (5). In acute myeloid leukaemia (AML), Anti-CD15, C3D-1, has been shown to label 21/35 (61.7%) of cases expressing CD15 in association with CD117 and/or CD34 (3). In acute lymphoblastic leukaemia (ALL) Anti-CD15, C3D-1, labelled 8/128 (6.25%) of B-lineage ALL and 0/26 T-lineage ALL cases (6).
Precautions	1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN ₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing. 3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
Storage	Store in the dark at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact our Technical Services.
Staining procedure	1. Collect venous blood into a test tube containing an anticoagulant. 2. Isolate mononuclear cells by centrifugation on a separation medium. Alternatively, lyse the red cells after step 6. 3. Wash the mononuclear cells twice with RPMI 1640 or PBS, pH 7.2-7.4. 4. In one test tube, mix 100 μ L cell suspension with 10 μ L F 0830. 5. In another test tube, mix 100 μ L cell suspension with an appropriate volume, e.g. 10 μ L, negative control reagent. The recommended negative control for F 0830 is DakoCytomation code No. X 0934. 6. Incubate in the dark at 4 °C for 30 minutes. 7. Wash twice with PBS containing 2% BSA. Resuspend the cells in each test tube in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL 1% paraformaldehyde (fixative) in 0.01 mol/L PBS, pH 7.4. 8. Analyse on a flow cytometer. It is recommended to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control. Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.






FRANÇAIS	
Intérêt	Pour diagnostic <i>in vitro</i> . F 0830 est destiné pour un usage en cytométrie en flux. En cytométrie en flux, anti-CD15 est considéré essentiel pour l'évaluation initiale des leucémies myéloïdes aiguës ainsi qu'avec un panel des autres anticorps. L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'historique clinique du patient et des autres examens diagnostics.
Synonymes de l'antigène	Lewis X, X-hapten, lacto- <i>N</i> -néo-fucopentaose III (LNFP III), antigène embryonnaire spécifique à un stade (SSEA-1), 3-FAL et 3-FL (4,5).
Introduction	Le CD15 est un antigène carbohydre porté à la fois par les glycoprotéines et les glycolipides. On a déterminé que la structure de l'antigène était Gal β 1-4[Fuc α 1-3]GlcNAc β 1-3Gal β 1-R. Le CD15 agit comme ligand pour les sélectines et peut également être impliqué dans l'adhésion cellulaire par interaction directe Lewis X-Lewis X (5). Le CD15 est exprimé principalement par les granulocytes et monocytes matures, mais aussi par les cellules de moelle osseuse immatures et par les cellules leucémiques de la lignée myélo-monocytaire (5). De plus, le CD15 est exprimé dans de rares cas de leucémies lymphoblastiques aiguës (ALL) (5, 6) ainsi que par les cellules d'adénocarcinome et les cellules épithéliales immatures (5).
Réactif fourni	Le conjugué anti-CD15, F0830 a été produit à partir d'un anticorps monoclonal de souris purifié. Le conjugué est fourni à l'état liquide en tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et du NaN ₃ à 15 mmol/l, pH 7,2. Chaque flacon contient 100 tests (10 μ l de conjugué pouvant traiter jusqu'à 10 ⁶ de leucocytes provenant de sang périphérique normal humain). <u>Isotype:</u> IgM, kappa. <u>Concentration du conjugué mg/l:</u> Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.
Immunogène	Neutrophiles humains purifiés (7).
Spécificité	L'Anti-CD15, C3D-1, a été inclus dans les Sixièmes Colloque et Conférence Internationaux sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains, et des études menées par différents laboratoires ont confirmé sa réactivité avec le CD15 (5). L'anti-CD15, C3D-1, montre une réaction aux granulocytes et monocytes du sang périphérique (5). Dans le cas de la leucémie myéloïde aiguë (AML), il a été prouvé que l'Anti-CD15, C3D-1, marque 21/35 (61,7%) des cas exprimant le CD15 associé au CD117 et/ou le CD34 (3). Pour la leucémie lymphoblastique aiguë (ALL), l'Anti-CD15, C3D-1, marquait 8/128 (6,25%) de cas d'ALL de la lignée B et 0/26 de cas d'ALL de la lignée T (6).
Précautions d'emploi	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), un composé chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien qu'il ne soit pas classé comme étant nuisible, l'azide de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métallisés. Lors de l'élimination du produit, laisser couler l'eau à flot pour éviter toute accumulation d'azides métallisés dans la tuyauterie. 3. Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.
Stockage	Conserver à l'obscurité entre 2° et 8°C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans d'autres conditions que celles spécifiées, ces conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contactez nos Services Techniques.
Procédure d'immunomarquage	1. Prélever le sang veineux dans un tube à essais contenant un anticoagulant. 2. Isoler les cellules mononucléaires par centrifugation dans un milieu de séparation. Sinon, lyser les globules rouges après l'étape 6. 3. Laver les cellules mononucléaires deux fois avec du RPMI 1640 ou du PBS, à 7,2-7,4 de pH. 4. Dans un tube à essai, mélanger 100 μ l de suspension cellulaire avec 10 μ l de F 0830. 5. Dans un autre tube à essai, mélanger 100 μ l de suspension cellulaire dans un volume adéquat, par ex: 10 μ l, de réactif de contrôle négatif. Le contrôle négatif recommandé pour le F 0830 est DakoCytomation code X 0934. 6. Laisser incubé à l'obscurité, à 4°C, pendant 30 minutes. 7. Laver deux fois avec du PBS contenant 2% de BSA. Re-suspendre les cellules dans chaque tube à essai dans une solution appropriée pour cytométrie de flux, par ex 0,3 ml 1% de paraformaldéhyde (fixateur) dans 0,01 mol/l PBS, pH 7,4. 8. Analyser sur un cytomètre en flux. Il est recommandé d'inclure un contrôle positif et négatif adéquats à chaque technique pour contrôler le réactif et la préparation. Noter que les conjugués fluorochromes sont sensibles à la lumière, et les échantillons doivent être protégés de cette dernière au cours de la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.

Zweckbestimmung	Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen. F 0830 ist für die durchflusszytometrische Anwendung bestimmt. In der Flowzytometrie wird Anti-CD15, zusammen mit einem Panel weiterer Antikörper, als ausschlaggebend für die initiale Beurteilung der Akuten Myeloischen Leukämien (AML) angesehen (1-3). Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.
Synonyme Bezeichnungen des Antigens	Lewis X, X-Hapten, Lakto-N-Neofucopentaose III (LNFP III), „Stage-Specific Embryonic Antigen-1“ (SSEA-1), 3-FAL und 3-FL (4,5).
Einleitung	CD15 ist ein Kohlehydratantigen, das sowohl von Glykoproteinen als auch Glykolipiden getragen wird. Die Struktur des Antigens wurde als Galβ1→4[Fuca1→3]GlcNAcβ1→3Galβ1→R festgestellt. CD15 dient als Ligand für Selektine und könnte auch durch eine direkte LewisX-Lewis X-Interaktion an der Zelladhäsion beteiligt sein (5). CD15 wird hauptsächlich auf reifen Granulozyten und Monozyten, jedoch auch auf unreifen Knochenmarkszellen und auf leukämischen Zellen myelo-monozytischer Abstammung exprimiert (5). Außerdem wird CD15 in seltenen Fällen akuter lymphoblastischer Leukämien (ALL) (5, 6) und auf Adenokarzinomzellen und unreifen Epithelzellen exprimiert (5).
Geliefertes Reagenz	Das Anti-CD71–Konjugat F 0830 stammt von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Das Konjugat wird in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/l Na ₃ , pH 7,2, geliefert. Jedes Fläschchen ist ausreichend für 100 Tests (10 µl des Konjugats sind für bis 10 ⁶ Leukozyten aus normalem, menschlichem peripheren Blut ausreichend). <u>Isotyp</u> : IgM, Kappa. <u>Konjugat-Konzentration mg/l</u> : Siehe Produktetikett.
Immunogen	Gereinigte menschliche Neutrophile (7).
Spezifität	Anti-CD5Anti-CD15, C3D-1, wurde Kontext des „Sixth International Workshop and Conference on Human Human Leucocyte Differentiation Antigens“ aufgenommen und Studien in einigen Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit CD15 (5). Anti-CD15, C3D-1, reagiert mit Granulozyten und Monozyten aus peripherem Blut (5). Es wurde gezeigt, dass Anti-CD15, C3D-1, bei akuter myeloischer Leukämie (AML) 21/35 Fällen (61,7 %), die CD15 in Verbindung mit CD117 und/oder CD34 exprimierten, markiert (3). Bei akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) markierte Anti-CD15, C3D-1, 8/128 Fällen (6,25 %) von akuter lymphoblastischer Leukämie der B-Zelllinien und 0/26 Fällen akuter lymphoblastischer Leukämie der T-Zelllinien (6).
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	1. Für geschultes Fachpersonal. 2. Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (NaN ₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden. 3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
Lagerung	Im Dunkeln bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Produkt angegebenen Verfallsdatum verwenden. Falls die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt werden, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produktes. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Verfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.
Färbeprozedur	1. Venöse Blutprobe in ein Probenröhrchen mit gerinnungshemmendem Mittel gewinnen. 2. Mononukleäre Zellen durch Zentrifugieren auf einem Abtrennungsmittel isolieren. Alternativ hierzu können die Erythrozyten im Anschluss an Schritt 6 aufgelöst werden. 3. Die mononukleären Zellen zweimal mit RPMI 1640 oder mit PBS, pH 7,2-7,4, waschen. 4. In einem Probenröhrchen 100 µl Zellsuspension mit 10 µl F 0830 suspendieren. 5. In einem weiteren Probenröhrchen 100 µl Zellsuspension mit einem angemessenen Volumen, z. B. 10 µl, Negativkontrollreagenz vermischen. Für F 0830 wird als Negativkontrolle DakoCytomation Code-Nr. X 0934. 6. Im Dunkeln bei 4 °C 30 Minuten lang inkubieren. 7. Zweimal mit PBS waschen, das 2 % BSA enthält. Die Zellen in jedem Probenröhrchen in einer für Flowzytometrie geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0,3 ml 1%igem Paraformaldehyd (Fixativ) in 0,01 mol/l PBS, pH 7,4, resuspendieren. 8. Im Durchflusszytometer analysieren. Es wird empfohlen, eine geeignete Positiv- und Negativkontrolle für jede Durchführung der Reagenz- und Präparationsprüfung mitzuführen. Es ist zu beachten, dass Fluorochromkonjugate lichtempfindlich sind und dass die Proben während der Färbeprozedur und bis zur Durchführung der Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

References/ Références/ Literatur

- van Dongen JJM, Adriaansen HJ. Immunobiology of leukemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF, editors. Leukemia. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Company; 1996. p. 83-130.
- Nakamura K, Ogata K, An E, Dan K. Flow cytometric assessment of CD15+CD117+ cells for the detection of minimal residual disease in adult acute myeloid leukaemia. Br J Haematol 2000;108:710-6..
- Bahia DMM, Yamamoto M, MLF Chauffaille, Kimura EYS, Bordin JO, Filgueiras MAC, et al. Aberrant phenotypes in acute myeloid leukemia: a high frequency and clinical significance. Haematologica 2001;86:801-6.
- Turni L, Shaw S, Watson B, Mason D. CD guide. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, De Haas M, et al, editors. Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference; 2000 June; Harrogate, UK. Oxford, New York: Oxford Univeristy Press Inc.; 2002. p. 763.
- Kannagi R. AS5. CD15 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. 348-351.
- Maynadié M, Campos L, Moskvotchenko P, Sabido O, Aho S, Lenormand B, et al. Heterogenous expression of CD15 in acute lymphoblastic leukemia; a study of ten anti-CD15 monoclonal antibodies in 158 patients. Leuk Lymphoma 1997;25:135-43.
- Stein H, Hansmann ML, Lennert K, Brandtzaeg P, Gatter KC, Mason DY. Reed-Sternberg and Hodgkin cells in lymphocyte-predominant Hodgkin's disease of nodular subtype contain J chain. Am J Clin Pathol 1986;86:292-7.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'écart du soleil (se reporter à la section conservation) Lichtgeschützt lagern (siehe Abschnitt zur Lagerung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	LOT	Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung