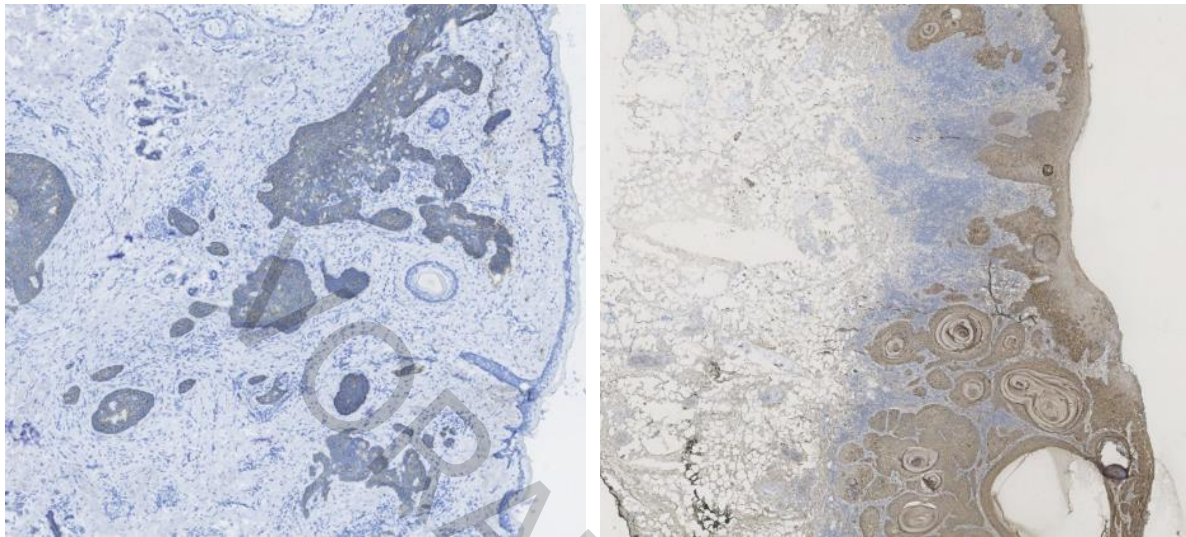


PRAXISORIENTIERTE DIPLOMARBEIT

**IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN AN
SCHNELLSCHNITT-PRÄPARATEN VON
HAUTTUMOREN**



CAREUM AG
BILDUNGSZENTRUM FÜR GESUNDHEITSBERUFE
HÖHERE FACHSCHULE FÜR BIOMEDIZINISCHE ANALYTIK
KURS HF20
JUNI 2023, NICO BUCHER

kempf und pfaltz

Vorwort und Danksagung

Die vorliegende, praxisorientierte Diplomarbeit beschäftigt sich mit der Thematik der immunhistochemischen Schnellschnittdiagnostik am Kryostaten zur Darstellung von Basalzell- und Plattenepithelkarzinomen.

Diese Diplomarbeit verfasste ich praktikumsbegleitend in einem Zeitraum vom Dezember 2022 bis Juni 2023. Das Zustandekommen dieser Diplomarbeit habe ich vielen Personen zu verdanken.

Ein grosses Dankeschön an meine Berufsbildnerin Daniela Joseph, welche mich mit Geduld, ihrer zuvorkommenden Art und interessanten Ideen und Denkansätzen begleitet, unterstützt und motiviert hat, und an meine Betreuungsperson Sandra Krayl, welche mich bei der Umsetzung und bei Fragen zu dieser Diplomarbeit unterstützt hat.

Ich bedanke mich weiter bei meinem Praktikumsbetrieb Kempf und Pfaltz und dem ganzen Team - hervorheben möchte ich an dieser Stelle Laborleiterin Sahika Marszewski für ihr Entgegenkommen bei zusätzlichem Zeitbedarf zu Diplomarbeitsszwecken und Alessandra Steinmann für ihre fachliche Hilfeleistung - für die Unterstützung in einer sehr hektischen Zeit und das Zur-Verfügung-Stellen einer umfassenden Bibliothek und Mikroskopen.

Des Weiteren danke ich denjenigen Pathologen, die mich bei der mikroskopischen Auswertung begleitet haben. Ein spezieller Dank geht hierbei an Dr. Alexander Benz und Dr. Franziska Aebersold Keller - sie haben mich mit spannenden Ideen und Denkansichten unterstützt und motiviert.

Ich erhielt die Möglichkeit eines eintägigen Einblickes in die Mohs-Chirurgie im Dermatologischen Zentrum Zürich. Ich bedanke mich an dieser Stelle bei Dr. Severin Läuchli und Ana Lourenco da Silva für diese für mich sehr wertvolle Erfahrung; es half mir beim Verständnis und bei der Herangehensweise an meine Diplomarbeit.

Ein weiteres Dankeschön geht an Tom Büsser der Firma Medite Service AG, welcher sich um die ganze Logistik und Lieferungen von Bio SB kümmerte, sich stets um rechtzeitige Lieferungen oder alternative Lösungen bemühte und den ich jederzeit für Fragen oder Anliegen erreichen konnte.

Zum Schluss noch ein grosses Dankeschön an meine Familie und insbesondere meine Freundin Bernice Hüsler, welche mich beim Schreiben dieser Diplomarbeit sehr unterstützt und motiviert hat.

Zur Vereinfachung der Lesbarkeit dieser vorliegenden Diplomarbeit wird auf die Zitierung aller Geschlechter bei «Pathologe» und «Biomedizinischer Analytiker» verzichtet: Die Nennung der genannten Begriffe berücksichtigt alle Geschlechter.

Zusammenfassung

Ein massgeblicher Teil der Schnellschnittdiagnostik bei Kempf und Pfaltz stellt die Schnitttrandkontrolle nach einer Tumorexzision dar: dies geschieht im Rahmen einer intraoperativen Beurteilung der Tumorfreiheit des eingesendeten Operationspräparates und geschieht mittels Aufarbeitung am Kryostaten nach Kriterien, die vom zuständigen Pathologen entschieden werden.

Stand dato werden diese auf Objektträger aufgezogenen Schnellschnitte HE-gefärbt und dem zuständigen Pathologen zur raschen Befundung überreicht – dieser histotechnische Prozess nimmt in der Regel ein kurzes Zeitfenster von 15 bis maximal 30min in Anspruch. Bei unklaren Fällen oder Diskrepanzen in der Befundung stellte sich die Frage, ob eine zusätzliche immunhistochemische Aufarbeitung der Tumorexzisate bei der Befundung betreffend Sensitivität bei der Anfärbung sowie Zeitaufwandminimierung helfen könnte.

Die vorliegende Diplomarbeit beschäftigt sich mit der Zielsetzung, die Einführung der immunhistochemischen Schnellschnittdiagnostik bei Kempf und Pfaltz anhand der immunhistochemischen Färbungen BerEP4 und CKAE AE1/AE3 zwecks Tumordiagnostik von Basalzell- und Plattenepithelkarzinomen zu ermöglichen.

In Zusammenarbeit mit Berufsbildnerin Daniela Joseph und Betreuungsperson Sandra Krayl wurden drei Fragestellungen erarbeitet, deren Beantwortung diese Zielsetzung ermöglichen sollte. Diese sind:

- 1) Kann der Tintodetector effizient, d.h. unter den Gesichtspunkten Ergebnisauswertung, Zeitersparnis, Aufwandminimierung und Kostenreduzierung, bei Kempf und Pfaltz eingeführt werden?
- 2) Können die gefärbten Schnellschnitte ausgewertet und interpretiert werden?
- 3) Bietet die Mohstechnik bei der Schnellschnitt-Tumordiagnostik mittels Immunhistochemie Vorteile, wie beispielsweise höhere Sensitivität gegenüber der Paraffineinbettung und Routine-HE-Färbung?

Im Zeitraum vom 31.01.2023 bis zum 05.04.2023 wurden Gewebeanteile von 29 eingesendeten Hautexzisaten zwecks der vorliegenden Diplomarbeit histotechnisch und immunhistochemisch verarbeitet.

Persönliche Erklärung

„Ich bestätige, die vorliegende Diplomarbeit mit dem Thementitel:

«Immunhistochemische Färbungen an Schnellschnitt-Präparaten von Hauttumoren»

selbständig verfasst zu haben.

Sämtliche Inhalte, die nicht von mir stammen, sind als Zitate gekennzeichnet und mit genauer Quellenangabe versehen, die im Literaturverzeichnis vollständig aufgeführt sind.“

Vorname: Nico

Name: Bucher

Kurs: HF 20

Ort / Datum / elektronische Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

Vorwort und Danksagung	i
Zusammenfassung	ii
1 Einleitung	1
1.1 Ausgangslage	1
1.2 Motivation und Relevanz	1
1.3 Zielsetzung	1
1.4 Vorgehen	2
1.5 Vorschau.....	2
2 Theorie	3
2.1 Anatomie der Haut.....	3
2.2 Tumoren der Haut: Basalzell- und Plattenepithelkarzinom	5
2.3 Prinzip der Immunhistochemischen Färbung	8
2.4 Die Gefrierschnittuntersuchung	10
2.5 Schnitttrandkontrolle und Mohs-Chirurgie	11
3 Praxis	12
3.1 Bio SB TintoDetector Mini Immuno System	12
3.2 Reagenzien.....	12
3.3 Probenmaterial	13
3.4 Methodisches Vorgehen.....	13
3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	18
4 Diskussion	20
4.1 Fazit	20
4.2 Ausblick	22
5 Reflexion	23
Literaturverzeichnis	24

ANHANG

- Anhang 1 Ergebnisse Versuchsreihen
- Anhang 2 Zeitaufwand und Kostenpunkt
- Anhang 3 Reagenzien
- Anhang 4 Probenmaterial und Auftragsformulare
- Anhang 5 Färbeprotokoll
- Anhang 6 Packungsbeilagen

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Aufbau Haut (Quelle: https://www.cicatrix.de/narben_haut_aufbau.html)	4
Abbildung 2: Schematischer Aufbau - Epidermis und Dermis; Ursprung des Basalzellkarzinoms blau markiert (Quelle: https://www.amboss.com/de/wissen/Haut_und_Hautanhangsgebilde)	4
Abbildung 3: superfizielles BCC (Quelle: http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2019/0459/pdf/dhr.pdf Seite 9)	6
Abbildung 4: sklerodermiformes BCC (Quelle: http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2019/0459/pdf/dhr.pdf Seite 10)	6
Abbildung 5: CKAE AE1/AE3-positiver Schnellschnitt eines cSCC (Eigenes Bildmaterial, 2023)	7
Abbildung 6: CKAE AE1/AE3-positiver Schnellschnitt eines superfiziellen BCC (Eigenes Bildmaterial, 2023)	7
Abbildung 7: Prinzip des Kits «Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System» - direktes Verfahren (Quelle: https://www.biosb.com/biosb-products/mohs-mouse-rabbit-polydetector-dab-hrp-brown-ihc-detection-system)	9
Abbildung 8: Schema zum Ablauf bei der Gewebeaufarbeitung zwecks Schnitttrandkontrolle (Bildquelle: Vorlage zur Schnitttrandkontrolle, internes Dokument, Kempf und Pfaltz)	10
Abbildung 9: Ablauf der klassischen Mohs-Chirurgie (Quelle: Fast Facts Skin Cancer Karen Agnew Christopher Bunker Second Edition, 2013 Oxford Page 72)	11
Abbildung 10: Verarbeitung eines Mohs-Exzisats beim Dermatologischen Zentrum ZH (Eigenes Bildmaterial, 2023)	11
Abbildung 11: Arbeitsplatz, TintoDetector mit Reagenzien (Eigenes Bildmaterial, 2023)	12
Abbildung 12: TintoDetector Mini ImmunoDNA System (Quelle: https://www.biosb.com/biosb-products/tintodetector-mini-immunodna-system/)	12
Abbildung 12: Beispielbilder betreffend Interpretierbarkeit einer Färbung (Eigenes Bildmaterial, 2023)	19
Abbildung 13: Versuchsreihe 10 mit HE-Färbung und IHC am Kryostatschnitt, sowie IHC am Paraffinblock (Eigenes Bildmaterial, 2023)	21
Abbildung 14: BerEP4-positiver Haarfollikelzellverband (rote Markierung) in einem Randstück, Gewebestück 161H (Eigenes Bildmaterial, 2023)	22
Abbildung 15: (Eigenes Bildmaterial, 2023)	22

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse	18
---	----

Diagrammverzeichnis

Diagramm 1: Zusammenfassung der Ergebnisse	19
Diagramm 2: Bewertung der Ergebnisqualität	19

1 Einleitung

1.1 Ausgangslage

Nach einer zuvor erfolgten immunhistochemischen Diagnostik am fixierten Gewebe und die Bestätigung eines Basalzellkarzinoms beziehungsweise Plattenepithelkarzinoms gelangt ein Tumorexzizat zwecks Schnittrandkontrolle zur Weiterverarbeitung durch einen BMA und zur Befundung durch einen Pathologen zu Kempf und Pfaltz.

Die Weiterverarbeitung durch einen BMA bezeichnet die histotechnische Aufarbeitung wie Gewebezuschnitt, Gefrierschnitt und die verkürzte HE-Färbung, die Befundung durch den Pathologen bezeichnet die Überprüfung, ob diese Exzision mit vorgegebenem Sicherheitsabstand der vollständigen Resektion im Gesunden genügt (R0-Resektion) und die Empfehlung beziehungsweise Anordnung einer Nachexzision bei allfälliger Indikation.

Hier liegt die Basis für die Idee zur vorliegenden Diplomarbeit: Immer wieder tauchte die Frage auf, ob im Rahmen einer Hilfestellung bei unklaren Fällen, beispielsweise schlecht abgrenzbaren Tumorresten am Schnittrand, eine genügend sensitive Immunhistochemie am gefrorenen Gewebe durchgeführt werden kann.

1.2 Motivation und Relevanz

Die Schnellschnittdiagnostik bei Kempf und Pfaltz impliziert eine hohe Relevanz – In einem Zeitraum vom November 2022 bis April 2023 gelangte beinahe täglich ein Tumorexzizat zwecks Schnittrandkontrolle ins Labor. Häufig handelte es sich um ein Basalzellkarzinom-Exzizat.

Bei unklaren Fällen könnte die immunhistochemische Aufarbeitung mittels BerEP4- bzw. CKAE AE1/AE3-Färbung am Schnellschnitt dem Pathologen eine unterstützende Hilfeleistung bieten, in dem kleinste und, in der HE-Färbung, schwer zu physiologischen Zellanordnungen abgrenz- und somit diagnostizierbare Tumorreste darstellbar werden.

Der nach Vorgaben der Pathologen genügenden Sensitivität soll die immunhistochemische Färbung auch eine Zeitersparnis und Kostenreduktion bieten.

Die vorliegende Diplomarbeit beschäftigt sich mit der immunhistochemischen Färbung an Gefrierschnitten zwecks Tumordiagnostik. Diese Immunhistochemie soll mit Hilfe eines neuen Gerätes, dem TintoDetectors Mini Immuno System der Firma Bio SB, das nach dem Prinzip des Kapillareffekts funktioniert, durchgeführt werden.

1.3 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Diplomarbeit beinhaltet die Einführung der immunhistochemischen Schnellschnittdiagnostik bei Kempf und Pfaltz anhand der immunhistochemischen Färbungen BerEP4 und CKAE zwecks Tumordiagnostik von Basalzell- und Plattenepithelkarzinomen.

Diese Zielsetzung soll umgesetzt werden mittels folgender Fragestellungen:

- 1) Kann der Tintodetector effizient, d.h. unter den Gesichtspunkten Ergebnisauswertung, Zeitersparnis, Aufwandminimierung und Kostenreduzierung, bei Kempf und Pfaltz eingeführt werden?
- 2) Können die gefärbten Schnellschnitte ausgewertet und interpretiert werden?
- 3) Bietet die Mohstechnik bei der Schnellschnitt-Tumordiagnostik mittels Immunhistochemie Vorteile, wie beispielsweise höhere Sensitivität gegenüber der Paraffineinbettung und Routine-HE-Färbung?

1.4 Vorgehen

Die ins Labor gesendeten Schnellschnitte wurden am Kryostaten geschnitten, HE-gefärbt und vom jeweiligen Pathologen befundet und rückgemeldet. Bei einigen Gewebeblöcken erfolgte anschliessend eine immunhistochemische Aufarbeitung am Bio SB Tintodetector, wenn in diesen Gewebeblöcken vom zuständigen Pathologen Karzinomreste als klar erkennbar deklariert oder als interessant bei eher unklaren Fällen erachtet wurden.

Es wurden 29 Versuchsreihen durchgeführt. Versuchsreihe eins bis vier geschah im Rahmen eines Herantastens an die korrekte Handhabung des TintoDetectors und brachten keine auswertbaren Ergebnisse hervor.

Es wurden 19 Basalzell- und sieben kutane Plattenepithelkarzinome immunhistochemisch verarbeitet.

Nach jeder Versuchsreihe wurden die gefärbten Schnitte dem zuständigen Pathologen zur Befundung und Beurteilung der Qualität in puncto Sensitivität und Färbeergebnis überreicht. Die gefärbten Schnitte wurden zeitnah gescannt und dunkel bei 4-8 Grad Celsius archiviert.

1.5 Vorschau

Das Kapitel Theorie befasst sich mit Grundlagen, die dem Verständnis der vorliegenden Diplomarbeit dienen – dies sind die Anatomie der Haut, das Basalzell- und das Plattenepithelkarzinom, Grundlagen der immunhistochemischen Färbung, die Gefrierschnittuntersuchung sowie die Tumorexzision und Mohs-Technik.

Im Kapitel Praxis werden die Gerätschaften und Reagenzien, das Probenmaterial und das methodische Vorgehen beschrieben. Ebenfalls in diesem Kapitel ist eine Zusammenfassung der Ergebnisse zu finden.

Im Kapitel Diskussion werden die Ergebnisse ausgewertet und das daraus resultierende Fazit erläutert. Es beinhaltet einen Ausblick.

2 Theorie

2.1 Anatomie der Haut

Die Haut wird in zwei Schichten unterteilt: Kutis (Haut) und Subkutis (Unterhaut). Die Kutis wiederum wird in Epidermis (Oberhaut) und Dermis (Lederhaut) unterteilt (Abbildung eins).

2.1.1 Epidermis (Oberhaut)

Die Epidermis ist aufgebaut aus mehrschichtigem, verhorntem Plattenepithel, ist gefässfrei und in der Regel 30 – 50 Mikrometer dick – kann aber, abhängig vom Grad ihrer mechanischen Belastung, eine Dicke von bis zu 2000 Mikrometern erreichen. Bis zu 90% der epidermalen Zellen sind keratinbildende Keratinozyten.c

Die Epidermis besteht aus vier Schichten, die der Basalmembran aufliegen - inferior zu superior: Basalschicht (stratum basale), Stachelzellschicht (stratum spinosum), Körnerschicht (stratum granulosum) und Hornschicht (stratum corneum). Diese Unterteilung erfolgt abhängig vom Differenzierungsgrad und Aussehen der Keratinozyten.

- **Basalmembran und Basalschicht (stratum basale):** Basalmembran: Sie grenzt die Epidermis zur Dermis ab und dient der Verzahnung mit der Dermis über Anker- und Mikrofibrillen.
- **Stratum basale:** Es handelt sich um eine einlagige Zellschicht. Sie dient dem Keratinozyten-Nachschub und zeigt eine hohe Mitosefähigkeit. Die neuen Zellen durchlaufen innerhalb von 28 Tagen sämtliche Epidermisschichten und differenzieren dabei aus.
- **Stratum spinosum:** Diese Schicht weist eine Dicke von zwei bis fünf Zelllagen auf. Es handelt sich dabei um melaninhaltige, polygonale Keratinozyten. Die Stachelzellform entsteht durch die stacheligen Verbindungen zu den umgebenden Zellen über die Desmosomen, an die Keratinfilamente (Proteinfäden, die der mechanischen Verspannung des Keratinozyten-Zellkörpers dienen) anknüpfen.
- **Stratum granulosum:** Diese Schicht von ein bis drei Zelllagen sind durch ihre Abflachung und reihenförmige Anordnung erkennbar. Sie enthalten Keratohyalin granula, die Vorläufer der Keratinmatrix der Hornzellen sind. Zudem sezernieren sie Proteine, die als Kittsubstanz der Hornschicht fungieren. In Kombination mit hydrolytischen Enzymen erfolgt eine Aushärtung der Zellmembran durch Vernetzung mehrerer Proteine.
- **Stratum corneum:** Hier liegen zehn bis zwölf Zelllagen kernloser, abgeflachter Keratinozyten, die inflexibel miteinander verbunden und vollständig mit Keratinfilamenten besetzt sind. Die im stratum granulosum synthetisierte Kittsubstanz aus verschiedenen Lipiden schliesst das stratum corneum wasserdicht ab.

2.1.2 Dermis

Die Dermis ist mit der Epidermis durch ein Wellenprofil verzahnt. Die mechanische Verankerung erfolgt über feste, starre Proteinfäden und Fasern.

Die Dermis unterteilt man in zwei Schichten, die Papillarschicht (stratum papillare) und die Netzsicht (stratum reticulare).

- **Stratum papillare:** Diese Lage enthält Papillarkörper, die mit den Epidermisleisten verzahnt sind, was der Stabilität dient. Sie enthalten schlaufenförmige, aufsteigende Kapillargefässe.
- **Stratum reticulare:** Diese Lage enthält bindegewebe- und kollagenproduzierende Zellen, die Fibroblasten. Kollagen und elastischen Fasern gewährleisten Stabilität, Reissfestigkeit sowie die intradermale Elastizität.

In der gesamten Dermis befinden sich ausserdem Lymphspalten und Nervenfasern, sowie weitere Hautanhangsgebilde, beispielsweise Talgdrüsen.

2.1.3 Subkutis

Die Subkutis ist aus Fettläppchen aufgebaut, deren Form durch Bindegewebsfasern definiert wird. Dieses Fettgewebe dient als Energiespeicher, Wärmeisolator und mechanisches Schutzpolster.

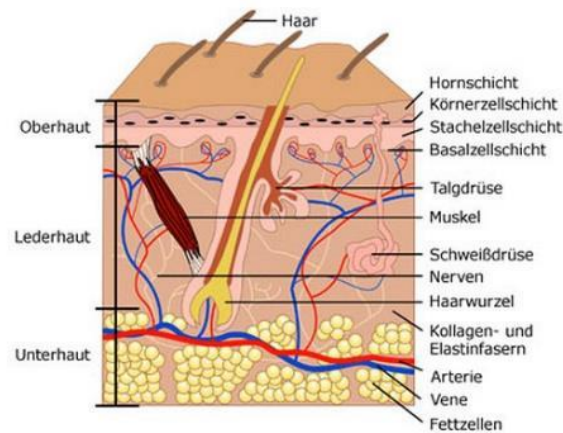


Abbildung 1: Schematischer Aufbau – Haut
(Quelle: https://www.cicatrix.de/narben_haut_aufbau.html)

2.1.4 Zur Lokalisation von Basalzell- und Plattenepithelkarzinomen

Basalzellkarzinome haben ihren Ursprung in der Basalschicht. Sie wachsen nestförmig in umliegende Epidermisschichten und können über die Basalmembran in die Dermis infiltrieren (Abbildung zwei, Ursprung: blaue Kennzeichnung)

Plattenepithelkarzinome entstehen in atypischen Keratinozyten des epidermalen Plattenepithels, durchbrechen die Basalmembran und infiltrieren in die Dermis und gegebenenfalls in tiefere Schichten.

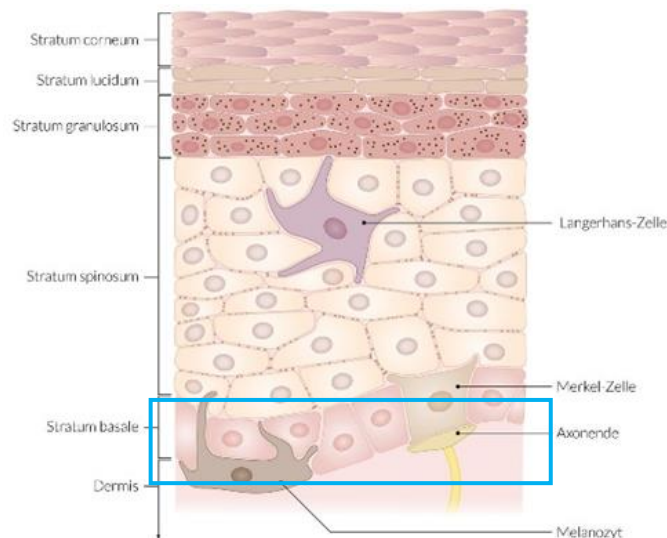


Abbildung 2: Schematischer Aufbau - Epidermis und Dermis; Ursprung des Basalzellkarzinoms blau markiert (Quelle: https://www.amboss.com/de/wissen/Haut_und_Hautanhangsgebilde)

2.2 Tumoren der Haut: Basalzell- und Plattenepithelkarzinom

2.2.1 Basalzellkarzinom

(nachfolgend BCC genannt, basal cell carcinoma)

Das BCC ist eine oberflächliche, langsam wachsende Papel oder Induration, die von epidermalen Zellen ausgeht, ein destruktives Wachstumspotenzial aufweist, aber nur sehr selten metastasiert. BCC entstehen aus epithelialen Stammzellpopulationen der Haarfollikel und aus Keratinozyten der interfollikulären Epidermis in der Basalschicht.

2.2.1.1 Epidemiologie

Etwa 75% aller nicht-melanotischen Hauttumoren sind BCC und damit die häufigsten Tumoren. Die Inzidenz steigt weltweit an – Grund dafür könnte durch verändertes Freizeitverhalten und die höhere UV-Belastung gegeben sein. BCC nehmen mit dem Lebensalter zu, zumeist sind Männer betroffen.

2.2.1.2 Ätiopathogenese

BCC nehmen ihren Ursprung bei adulten, stammzellähnlichen Zellen in der Basalschicht der Epidermis. Genetische Veränderungen in Signaltransduktionswegen führen zu einer Umprogrammierung hin zu embryonalen Haarfollikel-Progenitorzellen, die sich in ein Basalzellkarzinom entwickeln. Sie exprimieren die Zytokeratine CK5 und CK14.

Zur Entstehung eines BCC existieren genetische Faktoren, Exponierung von UV- und ionisierender Strahlung, aber auch Immunsuppression, sowie Karzinogene und chronische Hautschädigungen.

2.2.1.3 Klinik

Prädilektionsstelle für BCC ist das Gesicht: Bei etwa 80 % der Patienten sind sie am Kopf oberhalb des Mundes lokalisiert, wobei die Nase mit 30 % am häufigsten betroffen ist.

BCC weisen eine grosse Variationsbreite mit einzelnen Subtypen auf. Die relevantesten hierbei sind:

- **Noduläres BCC:** langsam wachsender, scharf begrenzter, und kuppelartiger Tumor mit glasiger Farbe und derber Konsistenz, von Teleangiektasien durchzogen
- **Sklerodermiformes BCC:** unscharf begrenzte, atrophische oder leicht erhabene, narbige, gelbliche Plaque mit einzelnen Teleangiektasien, selten ulzerierend, aber zu Infiltration in tiefer gelegene Strukturen neigend, so dass eine Exzision mit ausreichendem Sicherheitsabstand indiziert ist
- **Superfizieller Basalzellkarzinom:** scharf, aber unregelmässig begrenzte, rotbraune, leicht erhabene Plaque mit feiner Schuppung oder Krusten, in der Regel nicht ulzerierend

2.2.1.4 Histopathologie

BCC sind charakterisiert durch die vom Stratum basale ausgehenden, knötchenförmigen oder strangförmigen epidermalen Tumorzellproliferationen, die von einem dermalen Stroma (Tumorstroma) umgeben sind. Die Epidermis über dem Basalzellkarzinom zeigt sich meist atrophisch, beziehungsweise ulzeriert oder erodiert. Ebenfalls charakteristisch ist eine palisadenartige Aneinanderreihung der Tumorzellen im Randbereich. Zwischen Tumorzellen und Tumorstroma zeigt sich zumeist ein Spalt, der diagnostisch wegweisend ist. (Abbildungen 3 und 4; Abbildung drei zeigt ein superfizielles BCC mit typischer Tumorstroma, Abbildung vier ein sklerodermiformes BCC mit Tumornestern in der Dermis)

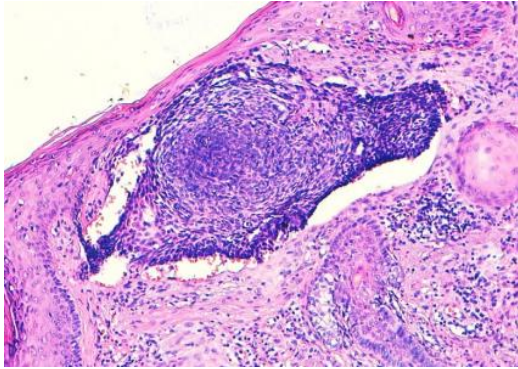


Abbildung 3: superfizielles BCC (Quelle:
<http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2019/0459/pdf/dhr.pdf> Seite 9)

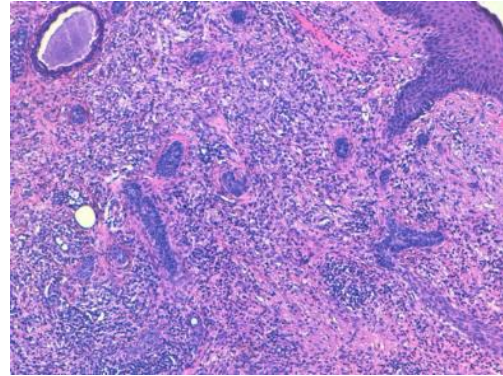


Abbildung 4: sklerodermiformes BCC (Quelle:
<http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2019/0459/pdf/dhr.pdf> Seite 10)

2.2.1.5 Bedeutung des Antigens EpCAM

Das epitheliale Zelladhäsionsmolekül EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule) ist ein Tumor-assoziiertes Antigen, dessen gesteigerte Expression mit einer erhöhten Proliferation spezifischer epithelialer Zellen einhergeht. Dieser Umstand kann zur Tumordiagnostik genutzt werden, zumal EpCAM normalerweise in der basolateralen Membran der Zellen in der Mehrzahl von epithelialen Geweben exprimiert wird und mittels des BerEP4-Antikörpers im Rahmen einer histologischen Färbung darstellbar ist. Die BerEP4-Färbung zeigt im Ergebnis eine zytoplasmatische Anfärbung der gesuchten Zellen und hat eine hohe Empfindlichkeit und Spezifität darin, nur in BCC-Zellen positiv zu sein. Die BerEP4-Färbung ist im Plattenepithel negativ, was insbesondere eine Abgrenzung zum Plattenepithelkarzinom erlaubt.

2.2.2 Plattenepithelkarzinom der Haut

(nachfolgend cSCC genannt, cutaneous squamous cell carcinoma)

Das cSCC ist ein maligne, von Keratinozyten ausgehende Neoplasie des epidermalen Plattenepithels. Es wächst vom epidermalen Plattenepithel lokal destruierend in tiefere Strukturen und kann metastasieren (5% der Fälle bei geringer Infiltration).

2.2.2.1 Epidemiologie

Nach dem BCC ist das cSCC der zweithäufigste maligne Hauttumor. Betroffen sind zumeist Patienten über 60 Jahren, Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Die Inzidenzraten zeigen weltweit eine steigende Tendenz.

2.2.2.2 Ätiopathogenese

Die Ursache des cSCC hängt von verschiedenen Faktoren ab. 95% der cSCC sind UV-Expositions-induziert. Eine gehäufte Manifestation zeigt sich vor allem in allen Partien des Gesichts sowie am Nacken.

Hauptursächlich für die Entstehung eines cSCC sind Mutationen im Tumorsuppressorgen p53 - diese sind UVB-Strahlen-induziert. Der funktionelle Verlust von p53 geht dem invasiven Tumorwachstum voraus. Es entsteht eine Resistenz gegenüber der Apoptose, dies führt zu einer klonalen Expansion. Eine weitere genetische Mutation im Kodon 12 des Ras-Onkogens H-Ras führt zu einer aberranten Aktivierung des Membranrezeptors EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) und somit zu einer gestörten Regulation der Zellproliferation.

2.2.2.3 Klinik

Frühformen des cSCC zeigen sich als verstärkt verhornte Plaques (Hyperkeratose), die symptomlos sein können. Die als «Präkanzerosen» bezeichneten Läsionen wie beispielsweise die aktinische Keratose oder Morbus Bowen gelten als frühe Entwicklungsstufe eines cSCC und gehen diesem oft voraus. Bei einer fortgeführten

Proliferation neoplastischer epidermaler Keratinozyten entstehen verdickte Plaques und derbe Knoten, die ein erhöhtes Potential an infiltrierendem, destruierendem, erodierendem und ulzerierendem Wachstum aufweisen. Das Risiko für Metastasierung ist gegeben, zeigt sich aber dennoch gering. In der Regel handelt es sich um eine lokale Lymphknotenmetastasierung (85% der Fälle).

Relevante Risikofaktoren für Metastasen und Rezidive sind:

- **Tumordicke:**
vertikale Tumordicke > 6 mm, horizontale Tumordicke $\geq$ 2 cm
- **Lokalisation:** Unterlippe, Ohr
- **Immunsuppression**

2.2.2.4 Histopathologie

Die häufigste Form des cSCC ist das superfizielle cSCC. Es ist makroskopisch nicht klar zu «Präkanzerosen» abgrenzbar. Histologisch sind sie charakterisiert durch das Vorhandensein einer deutlich asymmetrisch konfigurierten Proliferation epithelialer Zellen. Sie weisen Atypien wie Hyperchromasie, verdichtete Aggregation von Zellkernen, zystische Verhornungen (Keratinisierung) und Mitosen mit atypischer Konfiguration auf. Die, im Gegensatz zu den «Präkanzerosen», in die Dermis fingerförmig oder nodulär vordringenden, atypischen Keratinozytenproliferate sind meist mit der Epidermis verbunden und weisen Zell- und Kernpleomorphismen auf.

2.2.3 Bedeutung des Panzytokeratins CKAE1/A3-Antikörpercocktails

Bestimmte Zytokeratine werden physiologisch von epithelialen Zellen sezerniert und dienen der mechanischen Stabilität und Form des Zytoskeletts.

Es werden zwei Arten Zytokeratine unterschieden, der saure Typ I und der neutral-basische Typ II (Zytokeratine 1-8) – beide Arten werden von Epithelzellen der Epidermis exprimiert. In der Färbung mit Panzytokeratin CKAE1/A3-Antikörpercocktail sind Antikörper gegen saure und neutral-basische Zytokeratine als Gemisch vorhanden und weisen so im Rahmen der Tumordiagnostik eine essentielle Bedeutung auf: Wird in einer Tumorzelle Keratin nachgewiesen, verweist dies mit einer hohen Spezifität auf deren epithelialen Ursprung - nur epitheliale Zellen, physiologische sowie pathologische, sind mit dieser Färbung darstellbar. cSCC sowie auch BCC zeigen sich CKAE A1/A3 positiv (Abbildungen fünf und sechs).

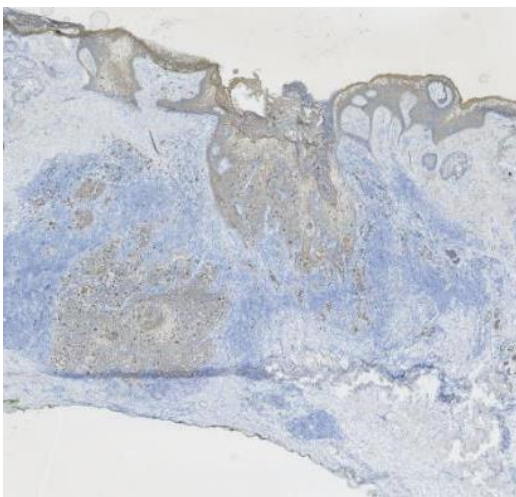


Abbildung 5: CKAE AE1/AE3-positiver Schnellschnitt eines cSCC (Eigenes Bildmaterial, 2023)



Abbildung 6: CKAE AE1/AE3-positiver Schnellschnitt eines superfiziellen BCC (Eigenes Bildmaterial, 2023)

2.3 Prinzip der Immunhistochemischen Färbung

Als Immunhistochemie (nachfolgend IHC genannt) wird eine biochemische Methode bezeichnet, welche die Visualisierung von Lokalisation und Expression spezifischer Antigene durch Antikörper und Chromogene mittels Antigen-Antikörper-Reaktion ermöglicht und somit eine hohe Relevanz in der Tumordiagnostik hat.

Während unterschiedliche Färbemethoden und Detektionssysteme existieren und die IHC-Färbung an Nativmaterial als Gefrierschnitt sowie an fixiertem und in Paraffin eingebetteten Gewebe durchgeführt wird, treten elementare Bausteine unabhängig der gewählten Methode auf. Der Einfachheit halber werden an dieser Stelle nur Elemente der IHC am Gefriergewebe erläutert – Elemente des Kits «Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System» von Bio SB. Abbildung sieben zeigt das Prinzip dieses «Ein-Schritt-Verfahrens».

2.3.1 Zielantigen

Als Antigen (nachfolgend AG genannt) wird eine Molekülstruktur bezeichnet, an die ein spezifischer Antikörper (nachfolgend AK genannt) über ein oder mehrere Epitope bindet.

Ziel-AG in der Tumordiagnostik sind Proteine, die von der Tumorzelle exprimiert werden und intrazellulär oder membranständig gelegen sind. Ziel der IHC-Färbung ist deren Visualisierung.

2.3.2 Primärantikörper (polyklonal)

Erstes Element der IHC-Färbung ist der Primär-AK, der selektiv an das Ziel-AG bindet.

Bei polyklonalen AK handelt es sich um AK, die am häufigsten in Kaninchen von verschiedenen Zellen generiert werden; sie interagieren mit verschiedenen Epitopen des Ziel-AG. Der höheren Anfälligkeit für Kreuzreaktionen mit anderen AG wird mit der Affinitäts-Chromatographie, bei der andere Serumproteine ausgesalzt und durch Ionenaustausch-Chromatographie entfernt werden, begegnet.

Polyklonaler AK besitzen den Vorteil, dass sie kostengünstig hergestellt werden können.

Das Kit «Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System» von Bio SB verwendet polyklonale AK.

2.3.3 Detektionssystem in der Schnellschnitt-IHC

Das Detektionssystem ist beim Kit «Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System» von Bio SB direkt gekoppelt an den Primär-AK («Ein-Schritt-Verfahren»). Der moderne Ansatz chromogener Detektion setzt auf Enzyme wie die Meerrettichperoxidase (Horseradish Peroxidase, HRP). Prinzip der Detektion beschreibt einen AK, der mit mehreren Enzymen konjugiert wird. Das gebildete Enzymsubstrat wird Polymer genannt - dieses bewirkt eine fortgeführte Erhöhung der Signalstärke, begründet in den zusätzlichen Bindungsstellen, die für das Chromogen generiert werden.

2.3.4 Chromogen

In einem weiteren Schritt wird ein Substrat, das Chromogen, eingesetzt, das vom Enzym zu einem unlöslichen Farbniederschlag umgesetzt und mikroskopisch visualisiert wird. 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) und alkalische Phosphatase (AP) stellen die relevantesten Chromogene dar. DAB zeigt eine braune Präzipitation und wird bevorzugt angewendet, da es eine kräftige, über die Zeit stabile Färbung zeigt. Es findet auch beim Kit «Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System» von Bio SB Verwendung.

2.3.5 Gegenfärbung

Zur besseren Darstellung der Gewebestruktur und Erhöhung des Chromogen-Präparat-Kontrastes wird eine Gegenfärbung auf einer Hämatoxylinbasis appliziert. Sie wird nach der Chromogenanfärbung angewendet und führt zu einem bläulichen Hintergrund.

2.3.6 Weitere Elemente

Weitere essentielle Bausteine einer IHC-Färbung am Gefrierschnitt sind eine geeignete Gewebevorbehandlung wie die Antrocknung des Gewebeschnitts auf dem OT, die adäquate Gewebefixierung durch Alkohol und/oder Aceton sowie die Unterdrückung der Peroxidase-Aktivität.

Die Peroxidasuppression ist eine Methode zur Inhibition der endogenen Peroxidase- oder Pseudoperoxidaseaktivität aus Zellen und Geweben zur Reduzierung von Hintergrundsignalen in HRP-basierten immunhistochemischen Anwendungen.

Die endogene Enzymaktivität führt zu einer unspezifischen Färbung, wenn ein Substrat wie Diaminobenzidin (DAB) vorhanden ist. Diese unspezifische Färbung ist schwer vom immunhistochemischen Marker zu unterscheiden. Die Reagenzien «Peroxidase Blocker» sowie «Tissue Factor» verhindern dies.

Mittels Demaskierung, die beim unfixierten oder lediglich Aceton-fixierten Gefrierschnitt wegfallen kann, werden die durch Membranen hervorgerufenen Molekülvernetzungen aufgebrochen und so der Zugang zum überdeckten Epitop des Zielantigens für den Primär-AK erleichtert. Eine stärkere Anfärbung bei einem positiven Signal ist das Ergebnis.

Bei der IHC am Gefrierschnitt kann ein «PIER» (Proteolytic-Induced Epitope Retrieval) als Demaskierungsprozess zum Einsatz kommen: PIER funktioniert über den Einsatz proteinverdauender Enzyme wie Proteinasen, die überdeckte Epitope freilegen. Das Reagenz «ImmunoDigestor» beinhaltet solche Proteinasen.

Allerdings ist eine Demaskierung am gefrorenen Gewebe äusserst heikel, denn diese Proteinasen können das Gewebe beschädigen oder gar lysieren. Bei der Durchführung der Versuchsreihen mit dem Reagenz «ImmunoDigestor» zeigte sich dieses Phänomen - sein Einsatz musste nach einigen Versuchen eingestellt werden.

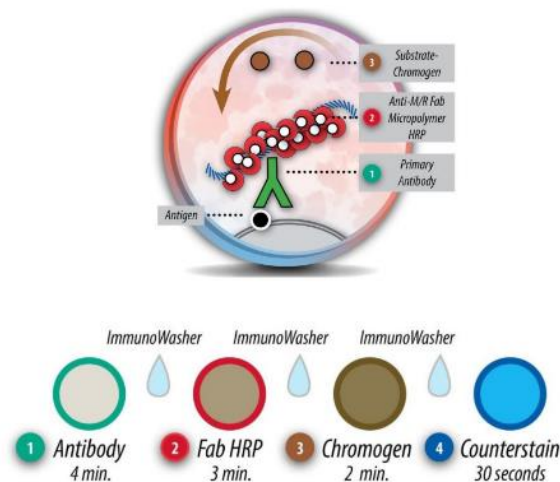


Abbildung 7: Prinzip des Kits «Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System» - direktes Verfahren (Quelle: <https://www.biosb.com/biosb-products/mohs-mouse-rabbit-polydetector-dab-hrp-brown-ihc-detection-system>)

2.3.7 Zur IHC am Gefrierschnitt

In der IHC zeigen Gefrierschnitte eine bessere Erhaltung der Antigene als formalinfixierte Paraffinschnitte. Die schlechtere Erhaltung morphologischer Details und die Gewebesensibilität gegenüber Inkubations- und Spülschritten beim Färbevorgang stellen zwei Nachteile bei der IHC am Gefriergewebe dar.

Zur Erhaltung optimaler Färbeergebnisse müssen unterschiedliche Ansätze betreffend Gewebefixierung und -trocknung sowie adäquate Inkubationszeiten und Reagenzienkonzentrationen erprobt werden.

2.4 Die Gefrierschnittuntersuchung

Die Gefrierschnittuntersuchung dient der Schnellschnittdiagnostik, insbesondere der Tumorfreiheit von Resektionsrändern (Schnitttrandkontrolle R0-Resektion), aber auch der Beurteilung der Entität sowie Dignität von unklaren Herdbefunden. Des Weiteren wird sie auch für enzymhistologische und immunhistologische Untersuchungen benötigt. Ihr klarer Vorteil liegt darin, dass die Formalinfixierung und Paraffineinbettung entfällt und sie damit schnell, das heisst innerhalb von 20-30min, durchführbar ist.

Das Gewebe muss nach der Entnahme zwingend unfixiert und bei längeren Transportwegen zusätzlich auf Eis gekühlt auf dem schnellsten Wege ins histopathologische Labor gebracht werden. Nach einer makroskopischen Begutachtung und Deskription durch den zuständigen Pathologen erfolgt die zur Diagnosestellung gewünschte Zuschnittmethode, siehe Abbildung acht, und eine Gewebestabilisierung durch Schockgefrieren. Mit dem Kryostat-Mikrotom werden von dieser gefrorenen Probe Schnitte von fünf bis acht Mikrometer angefertigt. Sie werden auf einen speziellen Glasobjektträger mit permanenter, positiver Ladung (Superfrost Plus) aufgezogen, kurz in Aceton fixiert, mittels einer zeitlich gekürzten Hämatoxylin-Eosin-Färbung gefärbt und sofort dem zuständigen Pathologen zur raschen Befundung überreicht. Der Befund wird vom Pathologen telefonisch dem Chirurgen übermittelt, welcher dann intraoperativ weitere Massnahmen treffen kann.

An Schnittpräparaten mittels Gefrierschnitttechnik lassen sich aber zumeist keine detaillierten Informationen über spezifische Tumoreigenschaften gewinnen, zumal das Gewebe durch das schnelle Einfrieren Qualitätseinbussen erleidet und nicht die Qualität von formalinfixierten Paraffinschnitten erreicht. Dies stellt hohe Anforderungen an den Pathologen und bedingt die Indikation einer intraoperativen Konsequenz des zu erwartenden Befundes. Die Probengrösse sollte zur optimalen Befundung adäquat ausfallen: ein Nachexzizat auf Grund einer zu kleinen Probe ist zu vermeiden.

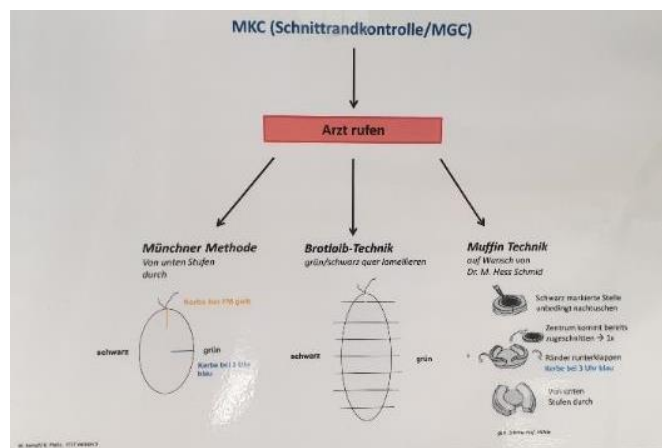


Abbildung 8: Schema zum Ablauf bei der Gewebeaufarbeitung zwecks Schnitttrandkontrolle (Bildquelle: Vorlage zur Schnitttrandkontrolle, internes Dokument, Kempf und Pfaltz, 2018)

2.5 Schnittrandkontrolle und Mohs-Chirurgie

Während BCC so gut wie nie metastasieren und Patienten somit durch eine vollständige Exzision dieser Tumoren geheilt werden können, führen unvollständig exziierte sowie randbildende Tumoranteile oft zu einem Rezidiv oder zu einer Erhöhung des Metastasierungsrisikos. Darin begründet liegt eine Empfehlung von Sicherheitsabständen bei der Exzision vor, die je nach Tumortyp von vier bis 15mm reicht.

Bei der schnittrandkontrollierten Chirurgie werden die Exzisate so eingebettet und auf einen Objektträger zur mikroskopischen Beurteilung aufgezogen, dass der Schnittrand in toto untersucht werden kann.

2.5.1 Mohs-Chirurgie

Das Verfahren nach Mohs-Technik wurde 1941 von Frederic E. Mohs erstmals beschrieben und ab 1970, nach Tromovic, adaptiert: Mit geringem Sicherheitsabstand wird der Tumor schüsselförmig exziiert. Das gewonnene Exzizat wird auf einer Kühlplatte flachgedrückt, mit Kryogel auf ein Medium eingebettet, geschnitten und so auf den Objektträger aufgezogen, dass der gesamte Schnittrand mit Epidermis und die Basis auf einem Schnitt betrachtet und allfällige Tumorreste innerhalb Minutenfrist exakt lokalisiert werden können.

Damit erhöht sich einerseits die Sicherheit der Totalität der Tumorentfernung, andererseits muss dank dieser Technik nur ein Minimum an Gewebe entfernt werden; dies dient dem Patientenkomfort, da Hospitalisationszeiten minimiert und Nachexzisionen, und damit einhergehend grössere Vernarbung nach dem Eingriff, vermieden werden. Abbildungen neun und zehn zeigen den Vorgang der Mohs-Chirurgie.

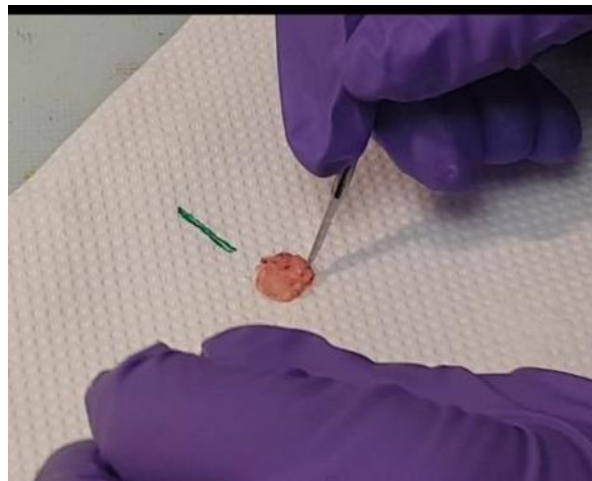
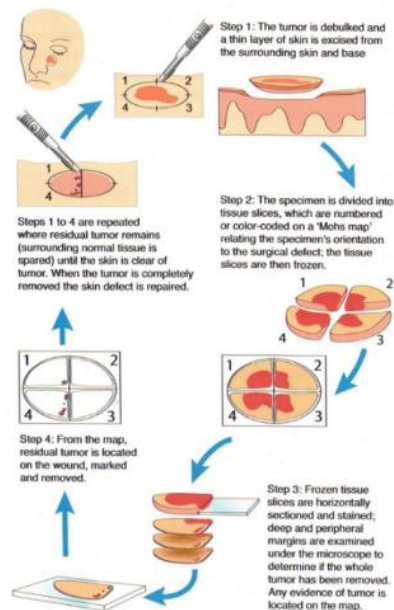


Abbildung 9: Ablauf der klassischen Mohs-Chirurgie (Quelle: Fast Facts Skin Cancer Karen Agnew Christopher Bunker Second Edition, 2013 Oxford Page 72)

Abbildung 10: Verarbeitung eines Mohs-Exzisats beim Dermatologischen Zentrum ZH (Eigenes Bildmaterial, 2023)

3 Praxis

3.1 Bio SB TintoDetector Mini Immuno System

(nachfolgend TD genannt)

Der TD ist eine nicht automatisierte, aus Edelstahl bestehende, offene Apparatur, die folgende Komponente beinhaltet (Abbildung elf):

- **TD Arbeitsplatz:** Dies ist eine Vorrichtung aus Edelstahl, die Platz bietet für vier Plastikbehälter und zwei flache Reagenzien-Reservoirs.
- **TD Objektträger-Halter:** In diesem Element werden bis zu 20 Bio SB Objektträger gegeneinander eingespannt. Es nutzt das Prinzip des Kapillareffekts.
- **TD Reagenzien-Reservoir:** Dieses Element verfügt über drei Reihen mit jeweils 10 Mulden, also total 30 Mulden, in die jeweils bis zu 200 Mikrolitern Reagenz appliziert werden.
- **Plastikbehälter mit Deckel:** Mit einem Fassungsvermögen von bis zu 200 Millilitern werden in diesen Flüssigkeiten wie Waschpuffer oder Aceton aufbewahrt.
- **TD Kapillareffekt-Objektträger:** es handelt sich um beschriftbare Objektträger, die einerseits für die Haftung des Gefrierschnittes eine permanente, positive Ladung aufweisen und andererseits an den unteren Ecken des Objektträgers zwei dreieckige, 75 Mikrometer dicke Beschichtungen tragen. Dadurch können jeweils zwei Objektträger mit den beschrifteten Seiten, an denen die Gewebe haften, aufeinandergelegt und in den Bio TD Objektträger-Halter eingespannt werden, ohne dass sich die Gewebe berühren. Der so entstandene Spalt ermöglicht den Kapillareffekt.
- **Absorber-Binden (optional):** Mit diesen saugfähigen Binden werden Reagenzien, die sich zwischen den Objektträgern befinden, entfernt.



Abbildung 11: Arbeitsplatz, TintoDetector mit Reagenzien (Eigenes Bildmaterial, 2023)



Abbildung 12: TintoDetector Mini ImmunoDNA System (Quelle: <https://www.biosb.com/biosb-products/tintodetector-mini-immunodna-system/>)

Zur Durchführung der Versuche wurden noch ein Trocknungsofen, der Desert Chamber ProTM, sowie in den ersten Versuchsreihen eine Heizplatte verwendet.

3.2 Reagenzien

Zur Durchführung der «Fast Mohs Immunocytochemistry» mittels TD werden immunhistochemische Detektionssysteme, als Kits bezeichnet, benutzt. Es gibt unterschiedliche Detektionssysteme, ein direktes «Ein-Schritt-Verfahren» sowie ein indirektes «Zwei-Schritt-Verfahren», die auch unterschiedliche Reagenzien und Chromogene enthalten. Im Rahmen dieser Diplomarbeit wird in diesem Unterkapitel lediglich das Kit erwähnt, das nach den ersten Versuchsreihen schliesslich zur

Reproduzierbarkeit der Ergebnisse genutzt wurde.

Folgende Reagenzien wurden zur Durchführung der Versuche verwendet:

- Aceton
- Deionisiertes Wasser
- Tissue Primer
- Mohs ImmunoDigester
- Buffer for Mohs ImmunoDigester
- ImmunoDNA Washer
- TintoFast EpCAM BerEP4
- TintoFast Cytokeratin AE1/AE3
- Hematoxylin Counterstainer
- Aqua Mounter
- Detektionssystem Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System, das folgende Reagenzien beinhaltet:
 - PolyDetector Peroxidase Blocker
 - Fast Mohs Fab PolyDetector
 - DAB Brown
 - Buffer for DAB Brown

Alle Reagenzien zur Durchführung der Versuche, ausser Aceton und deionisiertes Wasser, wurden von Bio SB bezogen.

Weitere Reagenzien, die in der Phase der Erprobung verwendet wurden:

- Waschpuffer Bond
- Demaskierungsreagenz Bond

Informationsblätter sowie LOT-Angaben zu den Reagenzien sind im Anhang zu finden.

3.3 Probenmaterial

Im Zeitraum vom 31.01. bis zum 05.04.2023 wurden Gewebeanteile von 29 Hautexzisaten, in denen vom zuständigen Pathologen im Rahmen der Schnittrandkontrolle jeweils Tumorreste befundet werden konnten (ausser Versuchsreihe 23), ausgewählt und immunhistochemisch gefärbt. Die Auswahl der Exzisate geschah nach laborinternen, zeitlichen Kriterien.

Es wurden Hautexzisate von unterschiedlichen Körperregionen und unterschiedlicher Grösse verwendet: 19 mit BCC- und sieben mit cSCC-Tumoranteilen. Diese Differenz liegt der Tatsache zu Grunde, dass, im genannten Zeitraum, häufiger Aufträge mit der Fragestellung nach Resektionsrändern bei BCC als bei cSCC eingesandt wurden.

Im Anhang sind die Auftragsblätter zu den jeweiligen Exzisaten zu finden.

3.4 Methodisches Vorgehen

Das methodische Vorgehen zur immunhistochemischen Färbung der Gefrierschnitte wurde, vor allem auf Grund von anfänglichen Lieferschwierigkeiten bei Reagenzien von Bio SB, im Laufe der Versuchsreihen leicht adaptiert, wobei nach einem anfänglichen Herantasten an die Vorgehensweise mittels unterschiedlichen Kits, Inkubationszeiten, Gewebeschnittplatzierung auf dem Objektträger und Reagenzienverdünnungen schliesslich die Reproduzierbarkeit optimaler Färbegergebnisse unter minimalem Zeitaufwand im Fokus stand. Die Versuchsreihen erstreckten sich vom 31.01.2023 bis zum 05.04.2023.

Nach Abschluss der Schnittrandkontrolle eines BCC beziehungsweise cSCC und Rücksprache mit dem zuständigen Pathologen wurden ein bis maximal drei Gewebestücke, die als nicht tumorfrei befundet wurden, am Kryostaten geschnitten und nachfolgend für die

Versuchsreihen der Diplomarbeit verwendet. Gewebestücke wurden im unteren Bereich des OT aufgezogen. BCC wurden immunhistochemisch aufgearbeitet mit dem Primärantikörper BerEP4, cSCC mit dem Primärantikörper CKAE AE1/AE3, wobei drei Mal stichprobenartig eine Negativkontrolle durchgeführt wurde: Gefrierschnitte mit cSCC-Tumorresten wurden dabei mit BerEP4 gefärbt.

Die Vorgehensweise beinhaltet als Grundgerüst invariable Elemente im Rahmen eines Schritt-für-Schritt-Verfahrens. Das Färbeprotokoll im Anhang zeigt den Färbablauf nach der Durchführung des Gefrierschnitts am Beispiel des Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection Systems (nachfolgend «braunes Kit» genannt), der im Verlauf der Versuchsreihen als Standard Verwendung fand.

Die Versuchsreihen werden nachfolgend, ab der vierten Versuchsreihe, einzeln erläutert. Repräsentative Ergebnisscans der jeweiligen Versuchsreihen sind tabellarisch im Anhang zu finden. Die Versuchsreihen eins bis drei brachten keine verwertbaren Ergebnisse hervor und geschahen im Rahmen eines Herantastens an den Umgang mit dem TD – sie werden deshalb hier ausgelassen und sind im Anhang zu finden.

3.4.1 Versuchsreihen

Versuchsreihe 4

Gefrierschnitte auf OT (5 Mikrometer), Gewebestücke 89 I/J

08.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Es wurde ohne Vorbehandlung und mit dem Bond Demaskierungsreagenz inkubiert - gefärbt wurde mit dem braunen sowie dem grünen Kit.

Versuchsreihe vier brachte hervor, dass die Gewebeschnitte auch ohne Vorbehandlung beziehungsweise Demaskierung färbbar sind. Die Demaskierung mittels Bond Demaskierungsreagenz führte zur Lyse des Gewebes und wurde deshalb nicht mehr durchgeführt. Das grüne Kit lieferte eine nicht stabile Färbung.

Versuchsreihe 5

Gefrierschnitt auf OT (5 Mikrometer), Gewebestück 94C

10.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Es wurde ohne Vorbehandlung und mit Tissue Factor inkubiert - verwendet wurde das braune und das grüne Kit.

Die Behandlung mit dem Tissue Factor zeigte eine stärkere und klarere Färbung als ohne Vorbehandlung. Die Vorbehandlung mit dem Tissue Factor wurde fortgeführt. Das grüne Kit zeigte abermals keine stabile Färbung.

Versuchsreihe 6

Gefrierschnitt auf OT, (6 Mikrometer) Gewebestück 83C

13.02.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3, bestätigtes SCC

Verwendet wurden das braune und das grüne Kit. Da das grüne Kit wiederum keine stabile Färbung zeigte, wurde es in der Folge nicht mehr eingesetzt. Die Gefrierschnittqualität bei einer Schnittdicke von sechs Mikrometer zeigte keine Unterschiede zu der bei fünf Mikrometer. Da das Gewebe sich aber bei einer Schnittdicke von 6 Mikrometer einfacher schneiden und auf den OT aufziehen liess, wurde die Schnittdicke von sechs Mikrometer zum Standard. Eine immunhistochemische Färbung mit AK TintoFast EpCAM BerEP4 wurde zwecks Negativkontrolle durchgeführt.

Versuchsreihe 7

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 99D/E/F

14.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 8

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 100C/D

14.02.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3, bestätigtes cSCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 9

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 103C

14.02.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 10

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 115 C/D

21.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes cSCC

Auf Wunsch des zuständigen Pathologen wurde eine Färbung mit TintoFast EpCAM BerEP4 durchgeführt, da eine Diskrepanz zwischen klinischen Angaben und Vorbefund (cSCC) und morphologischem Aspekt in der Schnitttrandkontrolle bestand. Auf diesen Fall wird im Fazit Bezug genommen.

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 11

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 110 C/D

21.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 12

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 114 B

21.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 13

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 119C/D

22.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer oder mittels vorangegangener Inkubation bei 95 Grad Celsius während 5min, anstelle der Inkubation bei 60 Grad Celsius für 3min. Gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 14

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 116 E

22.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer oder mittels vorangegangener Inkubation bei 95 Grad Celsius während 5min, anstelle der Inkubation bei 60 Grad Celsius für 3min. Gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Gewebevorbereitung mittels Inkubation bei 95 Grad Celsius wurde verworfen, da das Färbeergebnis deutlich schwächer ausfiel als das bei der Vorbehandlung bei 60 Grad Celsius.

Versuchsreihe 15

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 120B/H

24.02.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3, bestätigtes cSCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Nach der Idee des zuständigen Pathologen wurden alle Gefrierschnitte zur Routine-Schnellschnittdiagnostik auf SB OT aufgezogen und HE-gefärbt. Zwei OT, in denen Tumorreste ausgemacht werden konnten, wurden nach der Befundung mit der

immunhistochemischen Färbung mittels AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3 direkt überfärbt – ein OT wurde dabei wieder entfärbt, bevor die immunhistochemische Färbung appliziert wurde. Dies geschah im Rahmen einer Erprobung zur weiteren Verbesserung in puncto Zeitersparnis, Aufwandminimierung und Interpretierbarkeit des Färbeergebnisses. Dieser Ansatz wurde nicht weiterverfolgt, da die genannten Vorteile nicht erzielt wurden. Auf diesen Fall wird im Fazit eingegangen.

Versuchsreihe 16

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 125 C/D

28.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Primer oder nachgelieferten Mohs ImmunoDigestor, welcher gemäss Färbeprotokoll nach Bio SB das Standardreagenz bei der Demaskierung darstellt. Gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Die Demaskierung mittels Mohs ImmunoDigestor führte, trotz korrekter Verdünnung 1:4, zur Lyse des Gewebes und konnte zur Interpretation des Färbeergebnisses nicht verwendet werden. Die ganze Versuchsreihe galt als gescheitert, da keine Färbung gelang; als Grund angenommen wurde eine Funktionsuntauglichkeit des Chromogens - ein neues Kit wurde bestellt, das alte verworfen.

Versuchsreihe 17

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 121B

28.02.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels nachgelieferten Mohs ImmunoDigestor, gefärbt wurde mittels neuen, braunen Kits. Wiederum führte die Anwendung von Mohs ImmunoDigestor zur Lyse des Gewebes.

Versuchsreihe 18

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 130A/B

01.03.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3, bestätigtes cSCC

Vorbehandlung geschah mittels nachgelieferten Mohs ImmunoDigestor, gefärbt wurde mittels braunen Kits. Da die Anwendung von Mohs ImmunoDigestor erneut zur Lyse des Gewebes führte, wurde in Folge auf dessen Anwendung verzichtet.

Versuchsreihe 19

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 161D/E/H

16.03.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Ziel der letzten Versuchsreihen 19-29 stellte die Reproduktion optimaler Ergebnisse dar. Die Immunhistochemische Färbung geschah in puncto Inkubationszeiten und Ablauf nach Färbeprotokoll, verwendet wurde Tissue Primer zur Vorbehandlung, sowie das braune Kit zur Färbung. Auf das Färbeergebnis des Gewebestücks 161H wird im Fazit eingegangen.

Versuchsreihe 20

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 162C

16.03.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 21

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 166B/D

20.03.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 22

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 169A

20.03.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 23

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 174

22.03.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3

Gewebeaufarbeitung nach Muffin-Technik, «stufendurch» geschnitten - zwischen den Schnitten für die Schnellschnittdiagnostik wurde für eigene Zwecke Schnitte auf OT aufgezogen. Tumorreste wurden dementsprechend nicht vor der immunhistochemischen Färbung befundet - als Vorbefund wurde auf dem Auftragsformular cSCC angegeben. Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 24

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 170D/E

22.03.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 25

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 172C

22.03.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits.

Versuchsreihe 26

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 189D/E

30.03.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3, bestätigtes cSCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits. Eine Negativkontrolle mit AK TintoFast EpCAM BerEP4 wurde durchgeführt.

Versuchsreihe 27

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestück 191B

30.03.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits. Zusätzlich wurde eine immunhistochemische Färbung mit AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3 durchgeführt. Auf das Färbergebnis des Gewebestücks 191B wird im Fazit eingegangen.

Versuchsreihe 28

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 205B/C/D

05.04.2023, AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3, bestätigtes cSCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits. Eine Negativkontrolle mit AK TintoFast EpCAM BerEP4 wurde durchgeführt.

Versuchsreihe 29

Gefrierschnitt auf OT, Gewebestücke 206D/E

05.04.2023, AK TintoFast EpCAM BerEP4, bestätigtes BCC

Vorbehandlung geschah mittels Tissue Factor, gefärbt wurde mittels braunen Kits. Zusätzlich wurde eine immunhistochemische Färbung mit AK TintoFast Cytokeratin AE1/AE3 durchgeführt.

3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

3.5.1 Färbeergebnisse

Die nachfolgende Tabelle (Tabelle eins) listet die Versuchsreihen 4 bis 29 auf. Diagramme eins und zwei zeigen eine Ergebniszusammenfassung sowie die Bewertung der Ergebnisse.

Versuchsreihe (VR) Befund in Klammern	Färbung mit Primärantikörper EpCAM Bep4		Färbung mit Primärantikörper CKAE AE1/AE3		Negativkontrolle VR 6, VR 26, VR 28	Meinung des zuständigen Pathologen (Färbequalität)	
	Richtig positiv	Falsch negativ	Richtig positiv	Falsch negativ	Richtig negativ	Genügend	Unzureichend
4 (BCC)	x						x
5 (BCC)	x						x
6 (cSCC)			x		x		x
7 (BCC)	x						x
8 (cSCC)			x				x
9 (BCC)			x				x
10 (BCC)	x					x	
11 (BCC)	x						x
12 (BCC)	x					x	
13 (BCC)	x						x
14 (BCC)	x						x
15 (cSCC)			x			x	
16 (BCC)		x					x
17 (BCC)		x					x
18 (cSCC)				x			x
19 (BCC)	x						x
20 (BCC)	x						x
21 (BCC)	x						x
22 (BCC)		x					x
23 (cSCC)			x				x
24 (BCC)	x						x
25 (BCC)	x					x	
26 (cSCC)			x		x		x
27 (BCC)	x		x				x
28 (cSCC)			x		x	x	
29 (BCC)	x		x			x	

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse

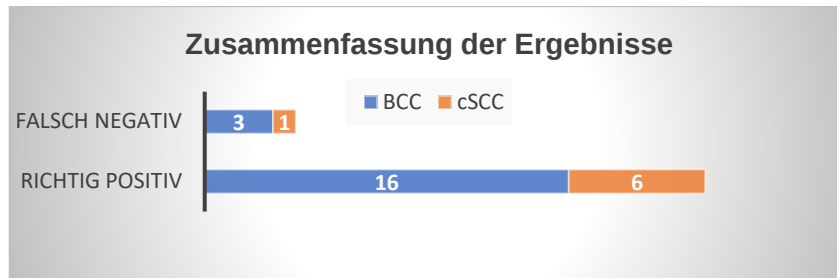


Diagramm 1: Zusammenfassung der Ergebnisse

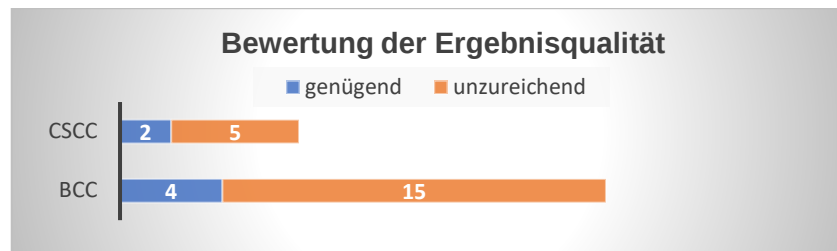
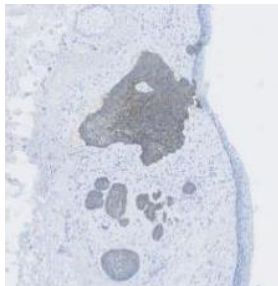


Diagramm 2: Bewertung der Ergebnisqualität

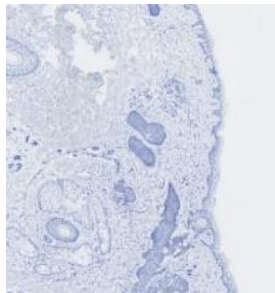
3.5.2 Beispielbilder

Die nachfolgende Abbildung (Abbildung 13) zeigt jeweils ein Beispiel für ein positives, ein negatives sowie ein schwach positives Färbeergebnis (schwarze Markierung):

Positiv



Negativ



Schwach positiv

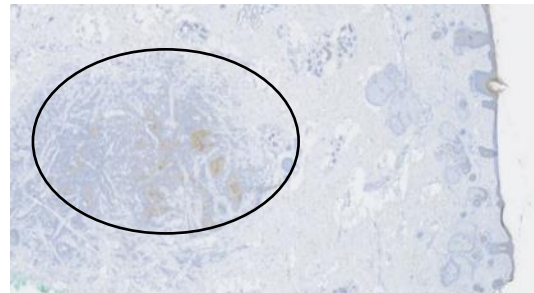


Abbildung 13: Beispielbilder betreffend Interpretierbarkeit einer Färbung (Eigenes Bildmaterial, 2023)

4 Diskussion

Dieses Kapitel befasst sich mit der Beurteilung der Zielsetzung der vorliegenden Diplomarbeit, dem damit einhergehenden Fazit und gibt einen Ausblick.

4.1 Fazit

4.1.1 Rekapitulation der Zielsetzung

Die Einführung der immunhistochemischen Schnellschnittdiagnostik bei Kempf und Pfaltz anhand der immunhistochemischen Färbungen BerEP4 und CKAE zwecks Tumordiagnostik von Basalzell- und Plattenepithelkarzinomen

4.1.2 Rekapitulation der Fragestellungen und deren Beantwortung

- 1) Kann der Tintodetector effizient, d.h. unter den Gesichtspunkten Ergebnisauswertung, Zeitersparnis, Aufwandminimierung und Kostenreduzierung, bei Kempf und Pfaltz eingeführt werden?

Nein. Die Immunhistochemische Färbungen anhand der Versuchsreihen vier bis 29 führten zwar in 22 Fällen zu einem auswertbaren Ergebnis, die Ergebnisqualität wurde aber in 20 Fällen von den zuständigen Pathologen als unzureichend eingestuft. Da die immunhistochemische Färbung mittels TD somit als nicht den Ansprüchen genügend sensitiv betrachtet werden kann, entfällt die Minimierung des Aufwandes und somit auch eine Kostenreduktion, sowie eine Zeiteinsparung; die immunhistochemische Färbung mittels TD kann Stand dato die Routine-HE-Färbung nicht ersetzen oder die Befundung effektiv erleichtern beziehungsweise ergänzen.

Die Kosten für einen Versuch à 2 gefärbten Schnitten auf 2 OT belaufen sich auf 41.35 CHF. Der Zeitaufwand betrug gegen Ende der Versuchsreihen, das bedeutet nach erfolgter Einarbeitung und Verbesserung der Handhabung mit dem TD, 26min. Dies wird als geringer Zeit- und Kostenaufwand erachtet.

Eine allfällige Anschaffung des TD Systems, ohne Reagenzien und Verbrauchsmaterial, würde Kempf und Pfaltz 10110.00 CHF (Preis nach Medite-Liste) kosten.

Preisberechnungen sowie Zeitmessungen sind im Anhang zu finden.

- 2) Können die gefärbten Schnellschnitte ausgewertet und interpretiert werden?

Ja. 22 von den 26 auswertbaren Versuchsreihen zeigten ein richtig positives Färbeergebnis in einem zuvor am Schnellschnitt durch den zuständigen Pathologen befundeten Gewebe. Die Interpretierbarkeit der Färbeergebnisse erwies sich in den meisten auswertbaren Schnitten als eher schwierig, war aber gegeben.

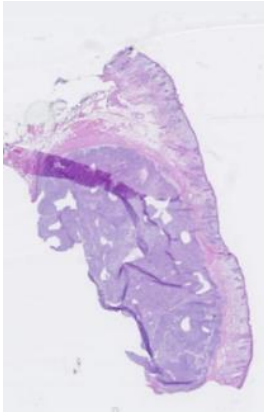
- 3) Bietet die Mohstechnik bei der Schnellschnitt-Tumordiagnostik mittels Immunhistochemie Vorteile, wie beispielsweise höhere Sensitivität gegenüber der Paraffineinbettung und Routine-HE-Färbung?

Diese Fragestellung kann so nicht beantwortet werden, da Exzisate mittels Mohstechnik im Zeitraum vom 31.01.2023 bis 05.04.2023 nur selten zu Kempf und Pfaltz ins Labor gesendet wurden. Wenn Mohs-Exziate eingesendet wurden, wurde das Gewebe, vom zuständigen Pathologen gewünscht, in toto auf ein Gefriermedium eingebettet und ausschliesslich «stufen durch» geschnitten – eine Verarbeitung für Diplomarbeit-Zwecke nach Schnittrandkontrolle entfiel somit, da kein Gewebe übrig blieb nach der Schnellschnittaufarbeitung.

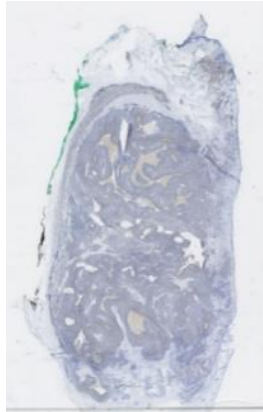
Bei Versuchsreihe 23 wurden zwischen den Stufenschnitten im Rahmen einer Stichprobe Schnitte für Diplomarbeit-Zwecke angefertigt und immunhistochemisch gefärbt – diese

Versuchsreihe erbrachte ein richtig positives Ergebnis, das aber in puncto Sensitivität als unzureichend beurteilt wurde.

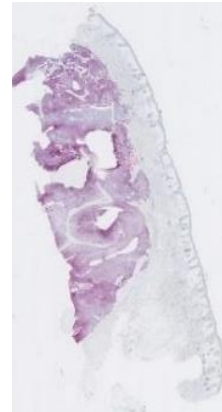
Alle 26 aufgearbeiteten Exzisate mit Tumorresten im Rahmen der Versuchsreihen betrachtet, bot die immunhistochemische Färbung mittels TD keine höhere Sensitivität als die Routineaufarbeitung mit IHC-Färbung. Dies wird auch anhand der Abbildung 14 ersichtlich, die einen exemplarischen Fall zeigt: Versuchsreihe zehn, Gewebestück 115C.



HE am Gefrierschnitt



IHC am Gefrierschnitt



Routine-IHC am Paraffinblock

Abbildung 14: Versuchsreihe 10 mit HE-Färbung und IHC am Kryostatschnitt, sowie IHC am Paraffinblock (Eigenes Bildmaterial, 2023)

Die gleiche Frage also, die sich aber eingeschränkt mit der Beurteilung der Sensitivität zwischen paraffineingebettetem und gefrorenem Gewebe beschäftigt und die Mohs-Chirurgie ausser Betracht lässt, muss deshalb negiert werden.

Das Fazit lautet somit, dass die Zielsetzung dieser Diplomarbeit verfehlt wurde.

Nach abschliessender Rücksprache mit der Institutsleitung wird die Einführung der IHC am Gefrierschnitt mittels TD Stand dato dennoch unter Vorbehalt realisiert. Auf Grund der gezeigten Interpretierbarkeit und Reproduzierbarkeit der Versuchsreihen im Rahmen dieser Diplomarbeit soll die IHC in ganz spezifischen Fällen zukünftig zur Anwendung kommen. Institutsleitungsinterne Besprechungen zu den Rahmenbedingungen sind pendent.

4.1.3 Erkenntnisse

Obschon zwei Fragen der Fragestellungen negiert werden mussten, zeigten die Versuchsreihen in mindestens vier Fällen dennoch spannende Gegebenheiten:

Versuchsreihe zehn:

In dieser Versuchsreihe bot die IHC am Gefrierschnitt dem zuständigen Pathologen eine wichtige Entscheidungshilfe bei der Befundung, zumal eine Diskrepanz zwischen Vorbefund und morphologischem Aspekt in der mikroskopischen Betrachtung vorherrschte.

Versuchsreihe 15:

In dieser Versuchsreihe konnte bewiesen werden, dass eine IHC am Gefrierschnitt auch nach einer verkürzten HE-Färbung am gleichen Schnitt durchgeführt werden konnte (immunhistochemische Überfärbung): mittels IHC konnte so, ohne Herstellung eines neuen Gefrierschnittes, eine Hilfeleistung bei einer Unklarheit in einem spezifischen HE-gefärbten Schnitt geboten werden.

Versuchsreihe 19:

Versuchsreihe 19 zeigte bei einem immunhistochemisch aufgearbeiteten Randstück des eingesendeten Exzisats einen sehr kleinen BerEP4-positiven Zellherd, der aber zu einem Haarfollikelzellverband gehört und keinen Tumorrest darstellt (Abbildung 14). An diesem

Beispiel sieht man die Schwierigkeit der Spezifität und Abgrenzbarkeit: Haarfollikel- sowie Talg- und Schweißdrüsenzellen exprimieren physiologisch auch geringe Mengen an EpCAM und zeigen sich in der Färbung teilweise BerEP4-positiv.

Versuchsreihe 27:

Versuchsreihe 27 zeigte auf, dass auch kleinste, zerstreute BCC-Tumorherde mittels IHC angefärbt werden konnten. Bei einem analogen Fall, der kleinste, randständig zerstreute Tumoranteile in einem Gewebe aufweisen würde, könnte diese positive Färbung eine Hilfeleistung bei der Befundung darstellen (Abbildung 16)



Abbildung 15: BerEP4-positiver Haarfollikelzellverband (rote Markierung) in einem Randstück, Gewebestück 161H (Eigenes Bildmaterial, 2023)



Abbildung 16: Tumorherde in einem BerEP4-positiven Schnitt (Eigenes Bildmaterial, 2023)

4.2 Ausblick

Um optimale immunhistochemische Färbeargebnisse am gefrorenen Gewebe erreichen zu können, bedarf es noch weiteren Versuchsreihen, die sich mit der Erprobung unterschiedlicher Vorbehandlungsarten, Inkubationszeiten sowie -temperaturen, Konzentrationen von Reagenzien und allenfalls Kombination verschiedener Reagenzien oder Vorbehandlungsarten befassen.

Nach einer erneuten Aufwand-Nutzen-Analyse, also die Gegenüberstellung ökonomischer Faktoren wie Kosten- und Zeitaufwand gegen die zu erwarteten Ergebnissen und deren Nutzen könnte die Einführung der immunhistochemischen Schnellschnittdiagnostik bei Kempf und Pfaltz realisiert werden. Tatsächlich ist dies Gegenstand aktueller institutsleitungsinternen Besprechungen, die sich unter anderem mit Rahmenbedingungen zur geplanten Umsetzung befassen.

Die Diagnostik bei der schnittrandkontrollierten Tumorexzision von BCC und cSCC wird bei Kempf und Pfaltz auch in Zukunft nicht an Relevanz einbüßen. Die Beschäftigung mit der Fragestellung, wie die Schnittrandkontrolle bei unklaren Fällen mittels immunhistochemischer Diagnostik erleichtert werden kann, bleibt eine wichtige Thematik.

5 Reflexion

Als mir die Idee zur Diplomarbeit kommuniziert wurde, verstand ich noch nicht genau, in welche Richtung sich meine Diplomarbeit entwickeln sollte; «Mohstechnik», «Basalzell- und Plattenepithelkarzinom», sowie «BerEP» und «Panzytokeratin» waren mir noch vollkommen fremde Begriffe.

Nach einer Einlesezeit in die Theorie, vor allem anhand spannender Literatur aus der gut ausgestatteten Bibliothek bei Kempf und Pfaltz, nach Gesprächen mit meiner Berufsbildnerin Daniela Joseph und nach dem Erhalt des SB TintoDetectors wuchs mein Interesse ungemein – ich freute mich, dass ich mich mit der Tumordiagnostik und Immunhistochemie beschäftigen durfte. Nach Mithilfe bei den Routine-Schnellschnitten und Mikroskopieren mit den Pathologen, die mir spannende Fälle näherbrachten, begann ich auch zu verstehen, welche Relevanz die Schnellschnittdiagnostik bei Kempf und Pfaltz hat. Der Besuchstag beim Dermatologischen Zentrum Zürich AG brachten mir weitere, äusserst wertvolle Einblicke in die schnittrandkontrollierte Chirurgie und Mohs-Chirurgie.

Die anfängliche Beunruhigung, nicht genügend Probematerial zu erhalten, verging schnell. Teilweise wurden an einem Tag drei oder mehr Schnellschnitte zu Kempf und Pfaltz gesendet, viele beispielsweise mit der Fragestellung nach der Exzision im Gesunden von Basalzellkarzinomen.

Mit dem Startschuss zum praktischen Teil und den Versuchsreihen kristallisierten sich einige Probleme heraus: Die Handhabung des TintoDetectors war schwieriger als gedacht und brachten viele Stolpersteine zum Vorschein, die Verzögerung der Reagenzienlieferungen bereitete mir Sorgen. Das Färbeprotokoll musste adaptiert werden, die ersten Färberversuche misslangen. Die Zeit der Einarbeitung und Ausprobung mit dem TintoDetector fiel zudem in eine Zeit, in der ein hohes Arbeitsaufkommen bei Kempf und Pfaltz herrschte. Dementsprechend mussten meine Versuchsreihen teilweise verschoben werden.

Im weiteren Verlauf entspannte sich die Lage durch Nachlieferung der Reagenzien und der Mehrzeit für eigene, sprich Diplomarbeitsszwecke. Es folgte eine produktive Zeit mit vielen Erfolgsergebnissen, die allerdings etwas gedämpft wurden durch die zu Beginn eher negative Beurteilung der Färbeargebnisse durch die Pathologen. Die Arbeit mit dem TintoDetector bereitete mir Freude, ich entwickelte viel Eigeninitiative und setzte, vor allem in Zusammenarbeit mit Daniela Joseph und einigen Pathologen, neue Ideen und Ansätze um. Ich entwickelte den Anspruch, optimale Färbeargebnisse durch häufiges Austesten und Wiederholen zu erreichen; dieser wurde durch drei positive Rückmeldung zu den Färbeargebnissen durch einige Pathologen verstärkt.

Mit den Versuchsreihen 16 und 17 folgte eine kurze Zeit der Frustration, denn trotz neuer Reagenzienlieferungen misslangen einige nachfolgende Versuche. Es konnte keine Färbung mehr realisiert werden, die Gründe konnten trotz Gesprächen mit meiner Berufsbildnerin und einigen Pathologen nicht ergründet werden.

Mit dem Einsatz eines neuen Färbekits folgte bis zum Abschluss des praktischen Teils erneut eine produktive Zeit mit Erfolgsergebnissen, bestätigt durch positive Beurteilungen einiger Pathologen.

Auch wenn die Zielsetzung meiner Diplomarbeit verfehlt wurde, bin ich mit den erarbeiteten Erkenntnissen sehr zufrieden. Es freut mich enorm, dass nach abschliessender Rücksprache mit der Institutsleitung eine Einführung der IHC an Schnellschnitt-Präparaten dank meiner Erkenntnisse dennoch realisiert werden soll! Ich bin sehr gespannt, wie die Einführung der immunhistochemischen Schnellschnittdiagnostik in naher Zukunft realisiert und umgesetzt wird.

Literaturverzeichnis

Literatur/Bücher/Dokumente

- Agnew, K., & Bunker, C. (2013). *Fast Facts: Skin Cancer*. Oxford: Health Press.
- Axonlab (Artikel von Heidemeyer, Michèle). (02 2021). *Antikörper – Ein Überblick*. Von <https://www.axonlab.com/blog/antikoerper-ein-ueberblick> abgerufen
- Boenisch, T. (2003). *Handbuch Immunchemische Färbemethoden 3. Auflage*. Hamburg: DakoCytomation GmbH.
- DDG, Deutsche dermatologische Gesellschaft (Prof. Dr. med. Cornelia S.L. Müller). (2022). S1-Leitlinie, Mikroskopisch kontrollierte Chirurgie,. AWMF-Register-Nr.: 013-064. AWMF online, das Portal der wissenschaftlichen Medizin. Von https://register.awmf.org/assets/guidelines/013-064I_S1_MKC_Mikroskopisch-kontrollierte-Chirurgie__2022-10.pdf abgerufen
- Garbe, C., & Dummer, R. (1997). *Dermatologische Onkologie*. Berlin: Springer Verlag.
- Homepage Gemeinschaftspraxis für Pathologie (Dr. A. Turzynski, Prof. Dr. A. Gocht, Prof. Dr. A. Lebeau, Dr. S. Leuenroth). (kein Datum). *Pathologen-Lübeck, Zytokeratine*. Von <https://www.pathologen-luebeck.de/Methoden/Immunhistologie/Antikoerper/Zytokeratine/zytokeratine.html> abgerufen
- Lang, G. (2013). *Histotechnik Praxislehrbuch für die Biomedizinische Analytik, 2. Auflage*. Wien: Springer Verlag.
- LeBoit, P. E., & Burg, G. (2006). *Pathology & Genetics, Skin Tumors, WHO classification of tumors*. Lyon.
- Leiter-Stöppke, U., & Garbe, C. (2019). *Kutane Plattenepithelkarzinome: Maligne Tumoren mit hoher Mutationslast*(Dtsch Arztebl 2019; 116(11): [4]; DOI: 10.3238/PersDerma.2019.03.15.01). Von <https://www.aerzteblatt.de/archiv/206006/Kutane-Plattenepithelkarzinome-Maligne-Tumoren-mit-hoher-Mutationslast> abgerufen
- Rupenthal, H. (2019). *Das Basalzellkarzinom der Nase, Klinik und histologische Behandlungsergebnisse*; Dissertation Phillips-Universität Marburg. Marburg an der Lahn. Von <http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2019/0459/pdf/dhr.pdf> abgerufen
- Schweizerische Zeitschrift für Dermatologie & Ästhetische Medizin. (2014). *Mohs-Chirurgie: Optimale Radikalität und Ästhetik in der Behandlung von Hauttumoren* (Autor: Severin Läuchli). (4 - 2014). Schweiz: Rosenfluh Publikation AG. Von <https://www.rosenfluh.ch/media/dermatologie-aesthetische-mezizin/2014/04/MohsChirurgie.pdf> abgerufen
- Szeimies, R., & Hauschild, R. (2010). *Tumoren der Haut, Grundlagen, Diagnostik und Therapie in der dermatologischen Onkologie, R. Szeimies & A. Hauschild*. Thieme Verlag KG.
- TintoFast. (kein Datum). Packungsbeilage TintoFast Cytokeratin AE1/AE3 von Bio SB.
- TintoFast. (kein Datum). Packungsbeilage TintoFast EpCAM BerEP4 von Bio SB.
- Tumorzentrum Oberösterreich (Dr. Kaltseis, Martin; Dr. Wipplinger, Michael; FA Dr. Kocik, Lukas). (01. 02 2022). *Plattenepithelkarzinom der Haut, Medizinische Leitlinie*. Von https://www.tumorzentrum.at/fileadmin/user_upload/20220308_Leitlinie_Plattenepithelkarzinom_der_Haut.pdf abgerufen
- Wells, G. L. (09 2022). MSD Manual; online Aritkel: Plattenepithelkarzinom. Von <https://www.msmanuals.com/de/heim/hauterkrankungen/hautkrebs/plattenepithelkarzinom> abgerufen
- Wolf, I. H. (kein Datum). Springer Link, Wiener klinisches Magazin, Artikel: Plattenepithelkarzinom der Haut. *Wolf, I.H. Plattenepithelkarzinom der Haut. Wien klin Mag 23, 252–256 (2020)*. Von <https://link.springer.com/article/10.1007/s00740-020-00360-2> abgerufen

Quellenverzeichnis (Webseiten)

- Amboss Wissen, *Plattenepithelkarzinom der Haut*. (Letzte Aktualisierung: 3.2.2023). Von https://www.amboss.com/de/wissen/Plattenepithelkarzinom_der_Haut/ abgerufen
- Amboss. (zugriffen März - Mai 2023). *Abmoss, Wissen: Basalkarzinom* (<https://www.amboss.com/de/wissen/Basalzellkarzinom/>).
- Antikörper-online (Kramer, David). (kein Datum). *Antikörper-online.de: Immunhistochemie (IHC)*. Von <https://www.antikoerper-online.de/resources/17/1216/immunhistochemie-ihc/> abgerufen
- Antikörper-online.de: Zytokeratine - Klassifizierung von Tumoren*. (kein Datum). Von <https://www.antikoerper-online.de/areas/cancer-research/cytokeratins-in-tumor-detection/> abgerufen
- Bio SB. (kein Datum). *Biosb. Products, Mohs ImmunoDigestor Products*. Von <https://www.biosb.com/biosb-products/mohs-immunodigestor/> abgerufen
- Deutsche Krebsgesellschaft. (kein Datum). *ONKO INTERNETPORTAL, Basalzellkarzinom: heller oder weißer Hautkrebs*. Von <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/hautkrebs/basalzellkarzinom.html> abgerufen
- Leica Biosystems Pathologie-Lernplattform. (kein Datum). *Immunhistochemie: Eine Übersicht + Schritte zu einer besseren IHC-Färbung* (Anderson J. Rolls G. Westra S.). Von <https://www.leicabiosystems.com/de-ch/knowledge-pathway/immunohistochemistry-an-overview-steps-to-better-ihc-staining/> abgerufen
- Medizinische Fakultät Universitätsklinikum Magdeburg A.ö.R. (kein Datum). *Institut für Pathologie: Schnellschnittdiagnostik*. Von <https://ipa.med.ovgu.de/Krankenversorgung/Klinische+Pathologie/Histopathologie/Schnellschnittdiagnostik.html> abgerufen
- MSD Manual. (kein Datum). *mikroskopisch kontrollierte Chirurgie nach Mohs*. Von <https://www.msmanuals.com/de/heim/multimedia/table/mikroskopisch-kontrollierte-chirurgie-nach-mohs> abgerufen
- Pathorama - pathologische Referenz-Bilddatenbank*. (kein Datum). Von PathoPic – Bilddatenbank / PathoPic ID 10471 - Basaloides Plattenepithelkarzinom des Anus: <https://www.pathorama.ch/pathopic/10471/show> abgerufen
- Schad, C., Dr. Antwerpes, F., Walter, F., van den Höfel, N., Haas, I., & No, D. (letzte Aktualisierung 08.04.2023). *DocChek Flexikon, Basalkarzinom*. Von <https://flexikon.doccheck.com/de/Basalzellkarzinom> abgerufen
- Springer Medizin e.Medpedia*. (kein Datum). Von https://www.springermedizin.de/emedpedia/braun-falcos-dermatologie-venerologie-und-allergologie/basalzellkarzinom?epediaDoi=10.1007%2F978-3-662-49546-9_101 abgerufen
- Thermo Fisher Scientific. (kein Datum). *Product Overview, Peroxidase Suppressor*. Von <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/35000> abgerufen
- Thieme (Hrsg.). (kein Datum). *Thieme via medici, online Lernmodule: Plattenepithelkarzinom der Haut*. Von <https://viamedici.thieme.de/lernmodul/5487372/4958305/plattenepithelkarzinom+der+haut> abgerufen
- Wikibrief, Immunhistochemiefärbung*. (kein Datum). Von <https://de.wikibrief.org/wiki/BerEp4> abgerufen

Quellenverzeichnis Abbildungen

Abbildung 1. (ohne Datum, Autor unbekannt, konsultiert März - Mai 2023). *Cicatrix* (https://www.cicatrix.de/narben_haut_aufbau.html).

Abbildung 2. (ohne Datum, Autor unbekannt, konsultiert März - Mai 2023). *Amboss* (https://www.amboss.com/de/wissen/Haut_und_Hautanhangsgebilde).

Abbildung 3. (2019). *Dissertation Rupthental Hannah* (<http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2019/0459/pdf/dhr.pdf> Seite 9).

Abbildung 4. (2019). *Dissertation Rupthental Hannah* (<http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2019/0459/pdf/dhr.pdf> Seite 10).

Abbildung 7. (ohne Datum, Autor unbekannt, konsultiert März - Mai 2023). *Biosb* (<https://www.biosb.com/biosb-products/mohs-mouse-rabbit-polydetector-dab-hrp-brown-ihc-detection-system/>).

Abbildung 8. *Vorlage zur Schnittrandkontrolle, internes Dokument, Kempf und Pfaltz*.

Abbildung 9. *Fast Facts Skin Cancer Karen Agnew Christopher Bunker Second Edition, 2013 Oxford Page 72*.

Abbildung 12. (ohne Datum, Autor unbekannt, konsultiert März - Mai 2023). *BiosB* (<https://www.biosb.com/biosb-products/tintodetector-mini-immunodna-system/>).

Abbildungen 5,6,10,11,14,15,16 und Titelbilder: Bucher, N. (Eigenes Bildmaterial, 2023)

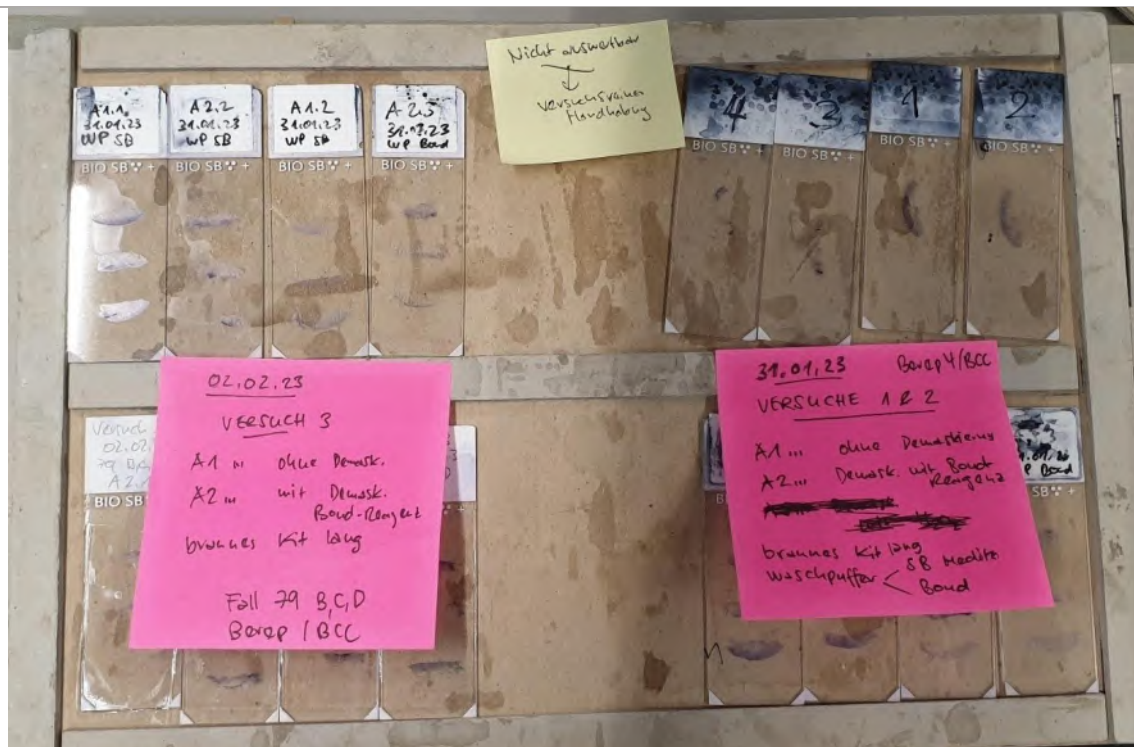
ANHANG

Anhang 1

Ergebnisse

Anhang 1 beinhaltet eine Tabelle, die Bilder der Versuchsreihen mit den Objektträgern und jeweils je ein repräsentativer Scan einer Färbung einer bestimmten Versuchsreihe zeigt - jedem Scan zugehörig ein Kommentar.

Versuchsreihen 1, 2 und 3



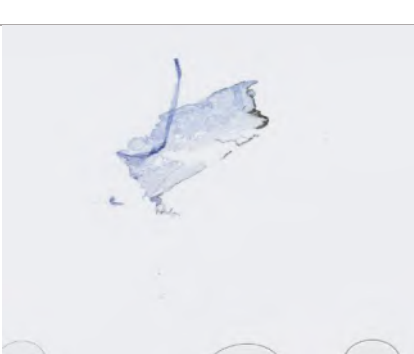
Versuchsreihe 1



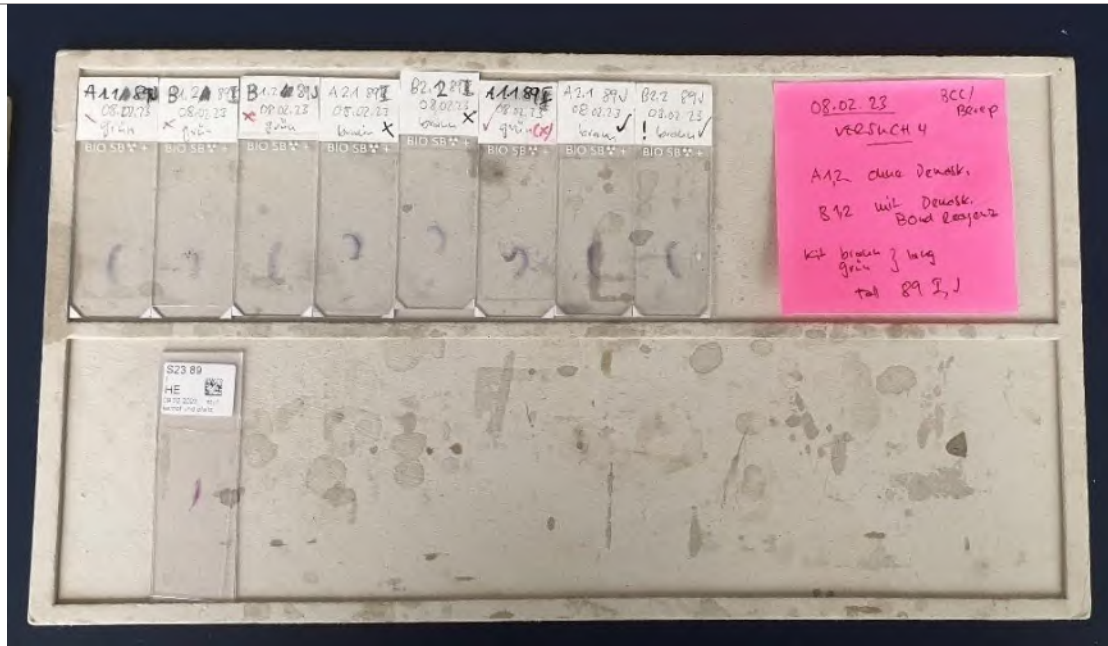
A 1.2

- Ohne Demaskierung
- Waschpuffer SB
- braunes Kit

→keine Färbung

	A 1.3 -Ohne Demaskierung -Waschpuffer Bond -braunes Kit → keine Färbung
Versuchsreihe 2	
	A 2.3 -Demaskierung mittels Bond-Reagenz -Waschpuffer Bond -braunes Kit →keine Färbung →Lyse des Gewebes
Versuchsreihe 3	
	A 1.1 -ohne Demaskierung -braunes Kit →keine Färbung
	A 2.2 -Demaskierung mittels Bond-Reagenz -braunes Kit →keine Färbung →Lyse des Gewebes

Versuchsreihe 4



A 2.1 89J

- Ohne Demaskierung
- braunes Kit

→ Färbung schwach positiv



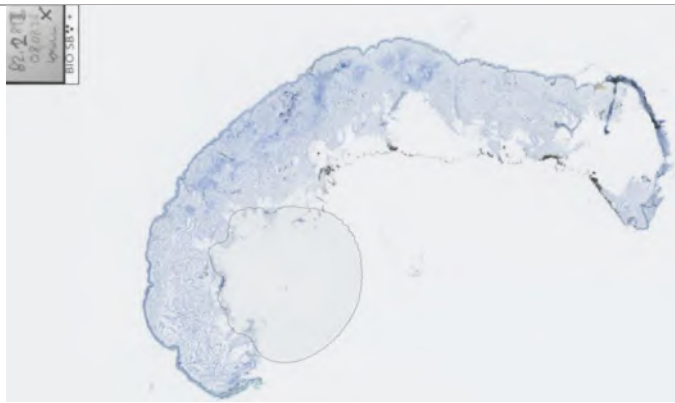
A 1.1 89I

- Ohne Demaskierung
- grünes Kit

→ Färbung schwach positiv (15min), keine Färbung im Verlauf



→ Befundung nach 15min

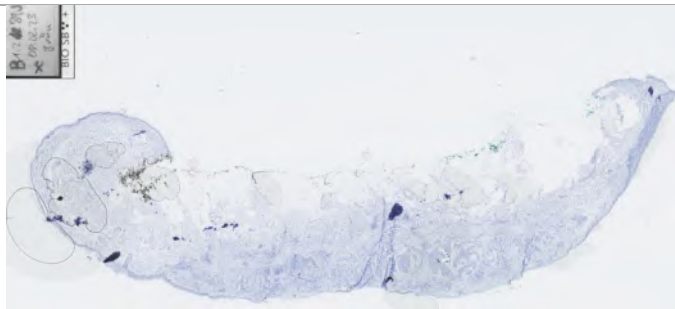


B 2.2 89I

-Demaskierung mittels
Bond-Reagenz
-braunes Kit

→ keine Färbung

→ Gewebe leicht lytisch



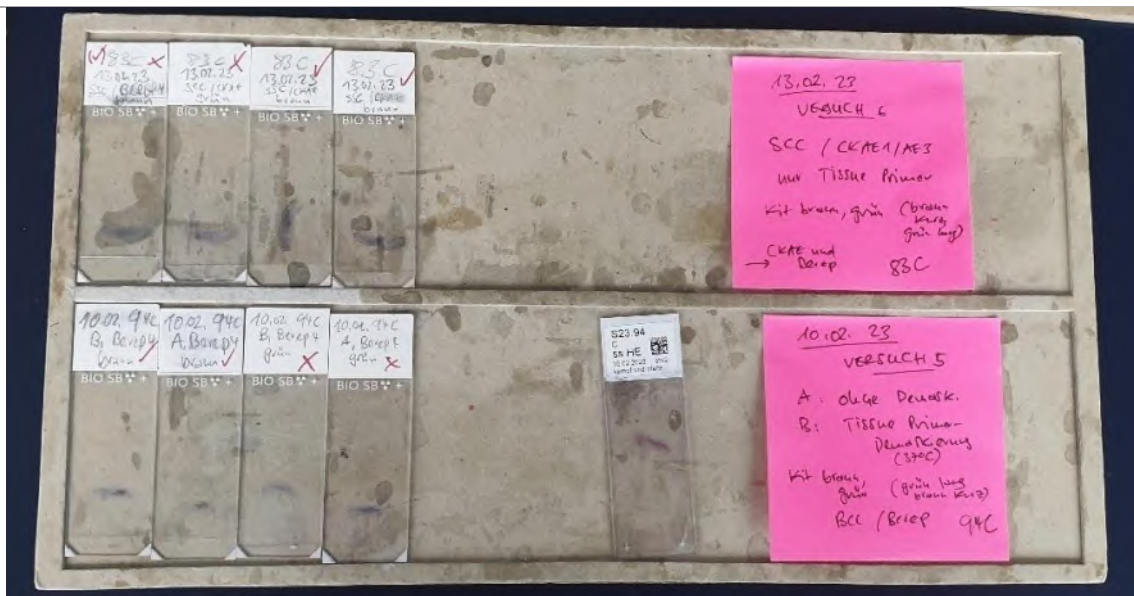
B 1.2 89J

-Demaskierung mittels
Bond-Reagenz
-grünes Kit

→ keine Färbung

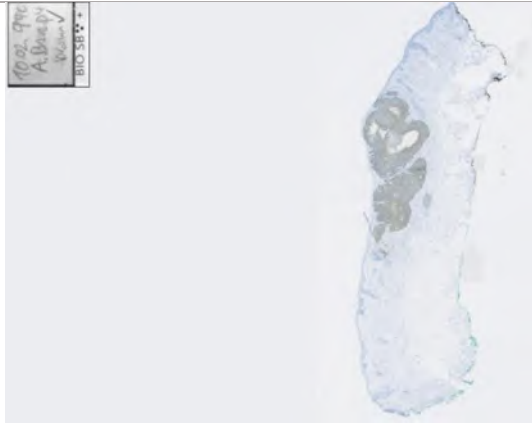
→ Gewebe leicht lytisch

Versuchsreihen 5 und 6



Versuchsreihe 5

10.02.94
A. Breyer
BIO SEV +



A 94C

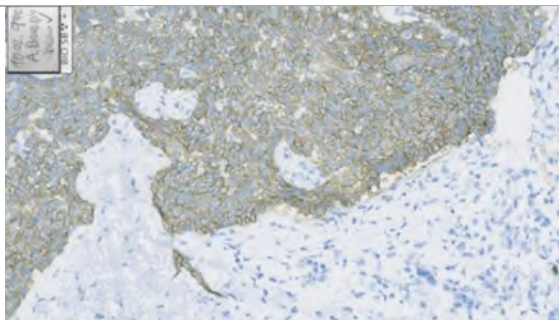
-ohne Demaskierung
-braunes Kit
→Färbung positiv

10.02.94
B. Breyer
BIO SEV +

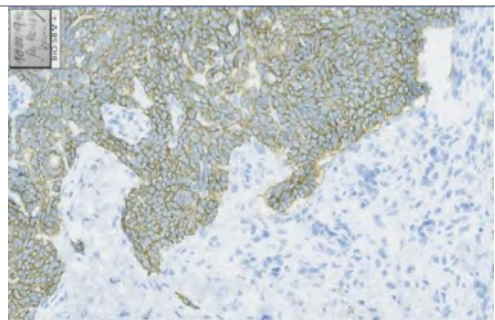


B 94C

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit
→Färbung positiv



Ohne Demaskierung

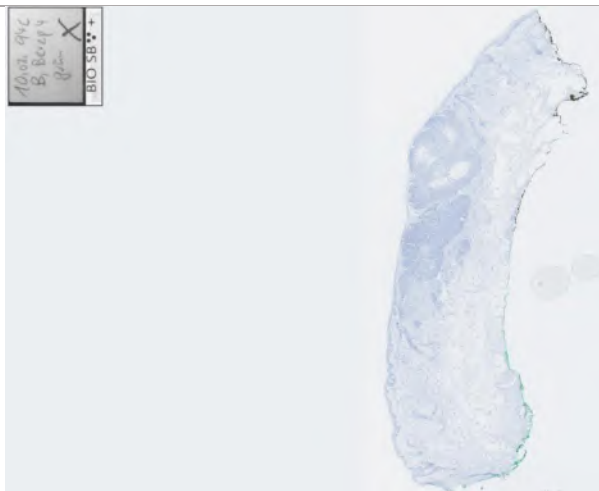


Demaskierung mittels Tissue Primer

Vergleich der Färbungen bei unterschiedlichen Vorbehandlungen

→Vorbehandlung mittels Tissue Primer präsentiert ein leicht klareres Färbeargebnis

10.02.94
B. Breyer
BIO SEV +



B 94C

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-grünes Kit
→keine Färbung



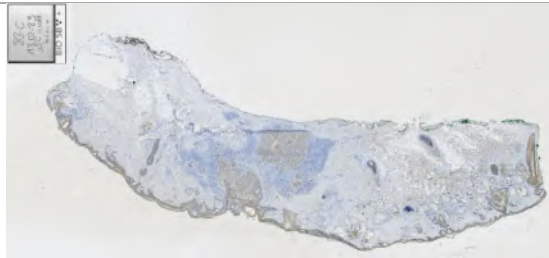
HE-Routine-Färbung



IHC-Färbung

Vergleich der Färbungen: HE-Routine- und IHC-Färbung

Versuchsreihe 6



83C

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→Färbung positiv

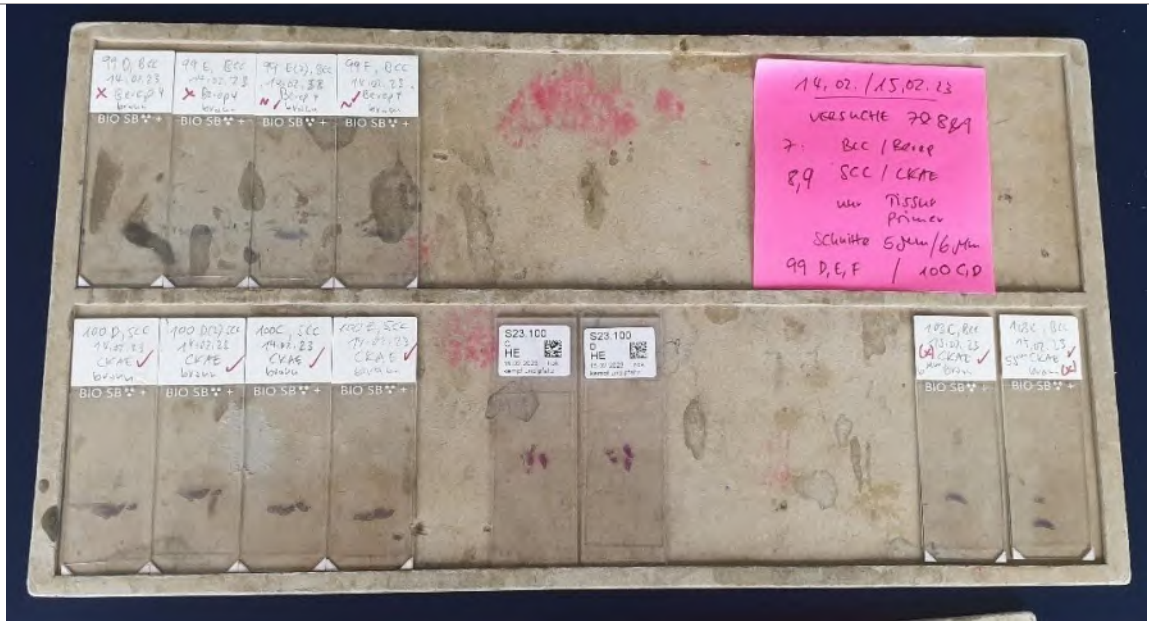


83C

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-grünes Kit

→keine Färbung

Versuchsreihen 7, 8 und 9



Versuchsreihe 7



99E

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- Schnitt 6 Mikrometer
- braunes Kit

→schwach positive Färbung

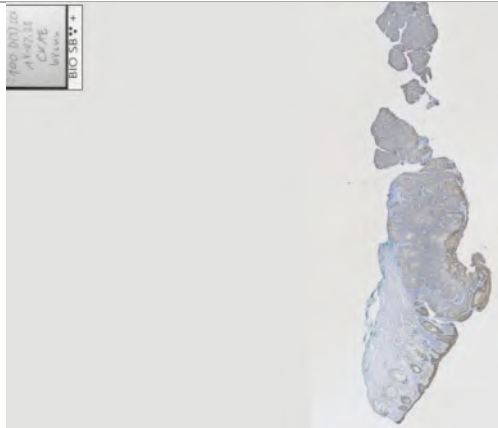


99F

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- Schnitt 5 Mikrometer
- braunes Kit

→schwach positive Färbung

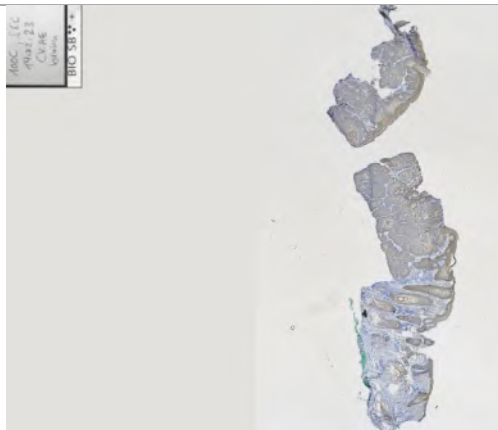
Versuchsreihe 8



100D

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- Schnitt 5 Mikrometer
- braunes Kit

→positive Färbung

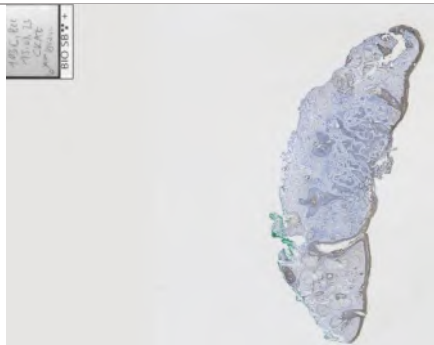


100C

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- Schnitt 6 Mikrometer
- braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihe 9



103C

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- Schnitt 6 Mikrometer
- braunes Kit

→positive Färbung

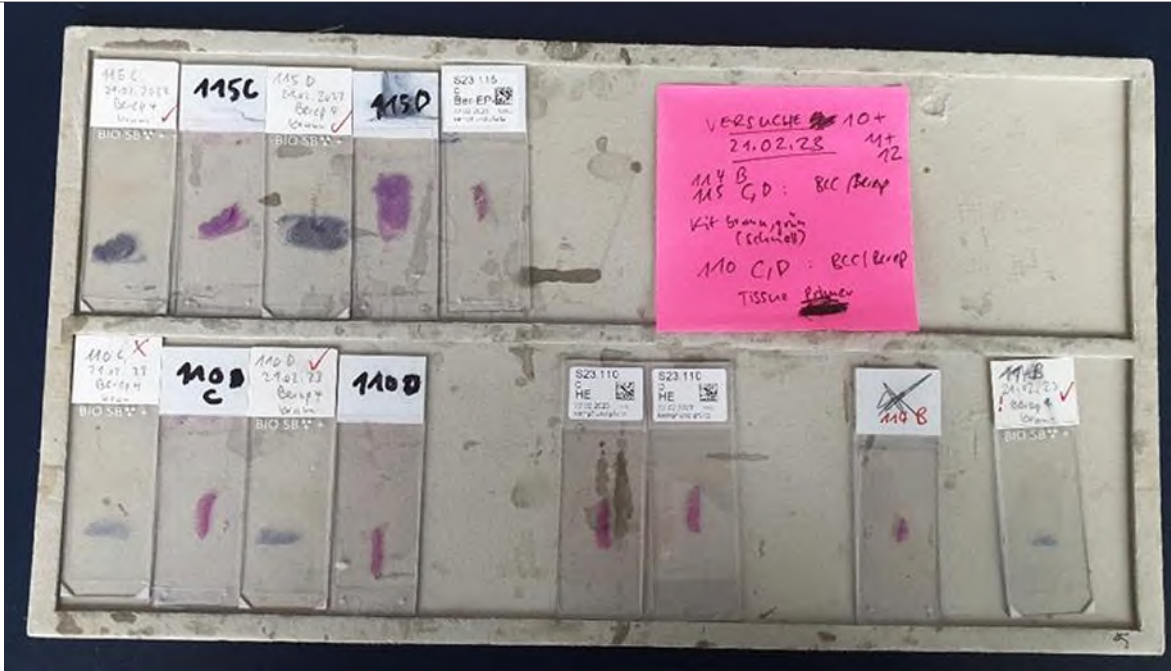


103C

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- Schnitt 5 Mikrometer
- braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihe 10, 11 und 12



Versuchsreihe 10



115C

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihe 11



110D

- Demaskierung mittels Tissue Primer
- braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihe 12



114B

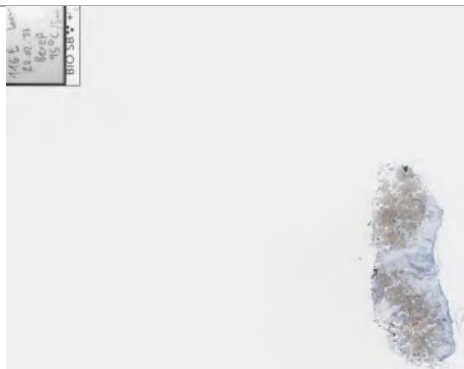
-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihen 13, 14 und 15



Versuchsreihe 13



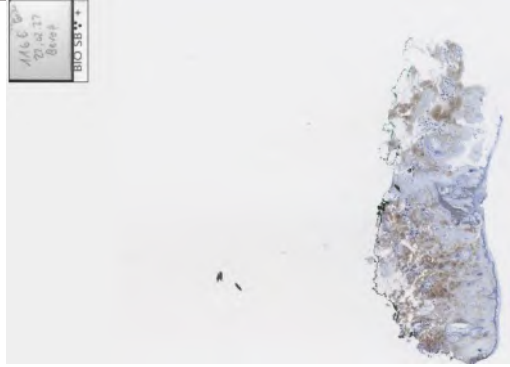
116E

-Demaskierung mittels Tissue Primer,
Inkubation bei 95 Grad Celsius und
5min

-braunes Kit

→positive Färbung

→viele Färbeartefakte

	116E -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →positive Färbung →vereinzelt Färbeartefakte im Fettgewebe
Versuchsreihe 14	
	119D -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →positive Färbung →vereinzelt Färbeartefakte im Fettgewebe
	119C -Demaskierung mittels Tissue Primer, Inkubation bei 95 Grad Celsius und 5min -braunes Kit →keine Färbung →Gewebe teilweise lysiert
Versuchsreihe 15	
	120B -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →positive Färbung
	120B -Demaskierung mittels Tissue Primer -Schnitt nach HE-Färbung immunhistochemisch überfärbt -braunes Kit →positive Färbung



120B

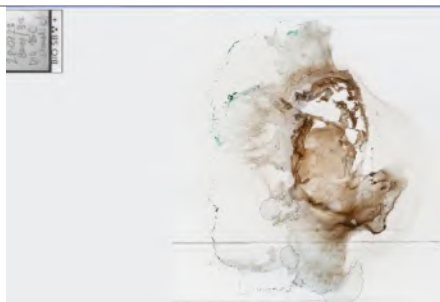
- Demaskierung mittels Tissue Primer
- Schnitt nach HE-Färbung entfärbt, anschliessend immunhistochemisch überfärbt
- braunes Kit

→ schwach positive Färbung

Versuchsreihen 16, 17, 18 und 19



Versuchsreihe 16

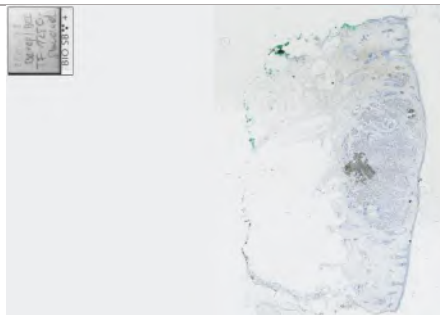


125C

- Demaskierung mittels Mohs ImmunoDigester
- braunes Kit

→ keine Färbung

→ Gewebe lysiert

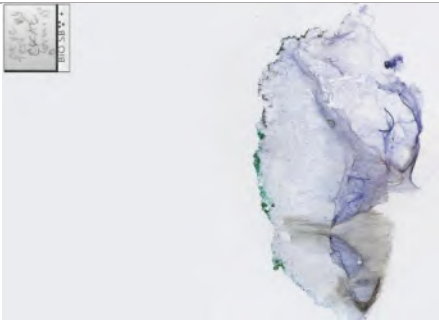
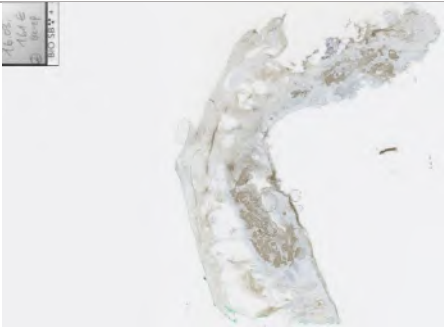


125C

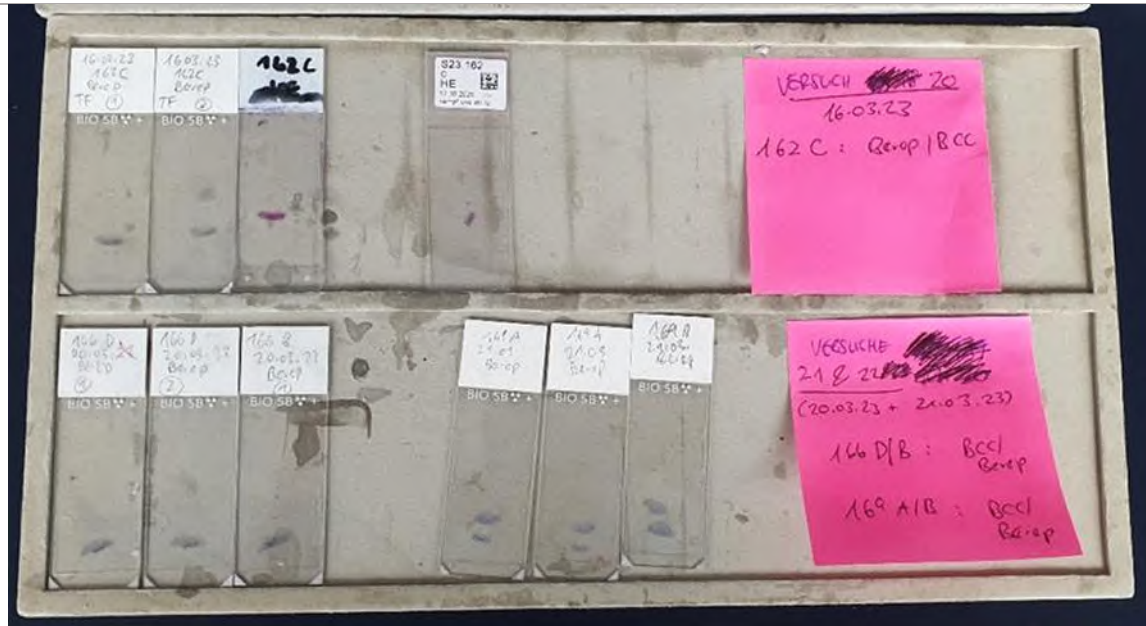
- Demaskierung mittels Tissue Primer
- braunes Kit

→ keine Färbung

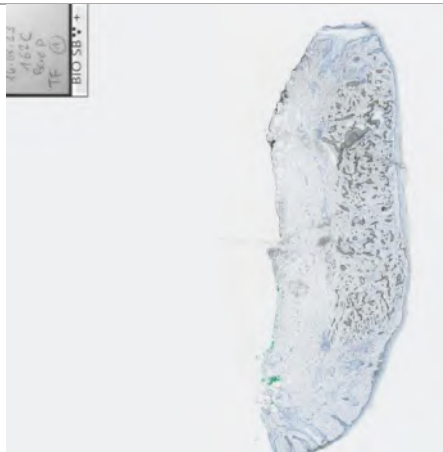
→ Gewebe zeigt Färbeartefakte

Versuchsreihe 17		
		121B -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →keine Färbung →Gewebe teilweise lysiert
Versuchsreihe 18		
		130B -Demaskierung mittels Mohs ImmunoDigestor -braunes Kit →keine Färbung →Gewebe lysiert
Versuchsreihe 19		
		161E -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →positive Färbung →teilweise Färbeartefakte im Fettgewebe

Versuchsreihen 20, 21 und 22



Versuchsreihe 20

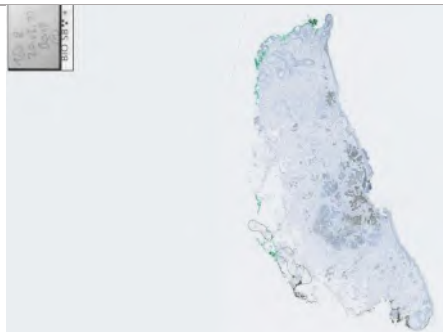


162C

-Demaskierung mittels
Tissue Primer
-braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihe 21



166B

-Demaskierung mittels
Tissue Primer
-braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihe 22

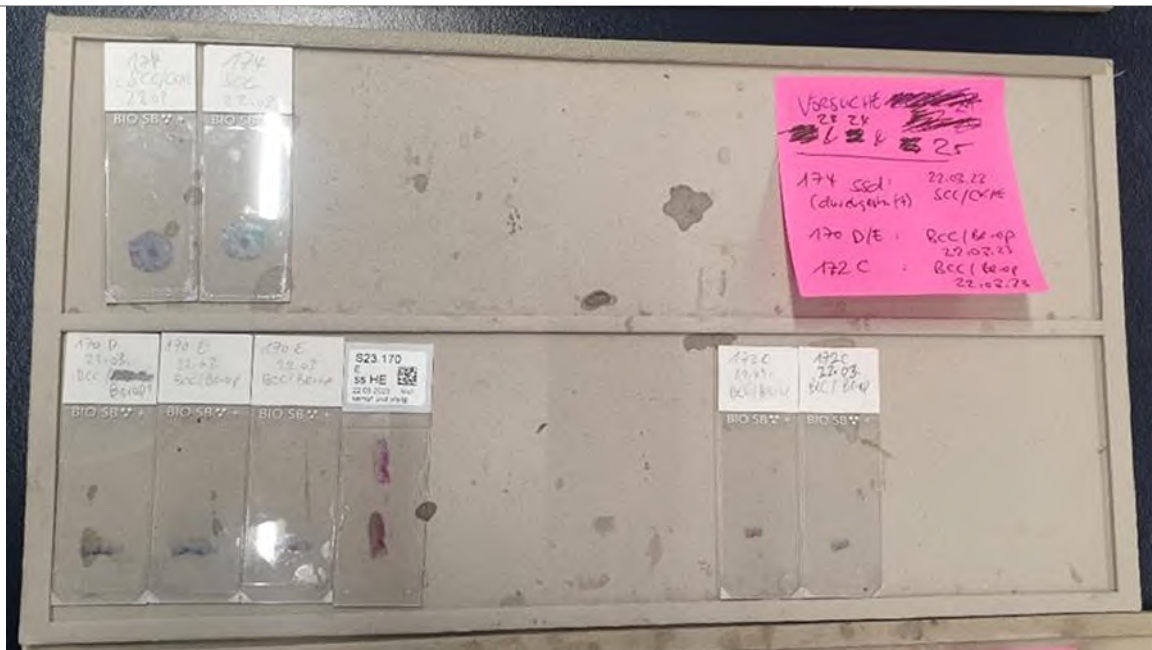


169A

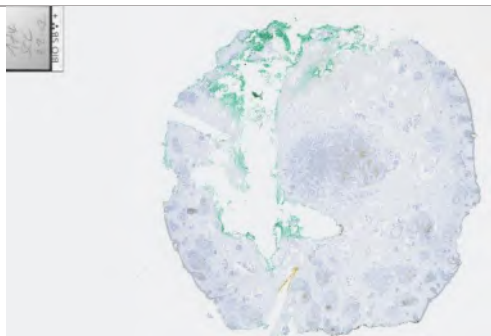
-Demaskierung mittels
Tissue Primer
-braunes Kit

→keine Färbung

Versuchsreihen 23, 24 und 25



Versuchsreihe 23



174

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→schwach positive Färbung

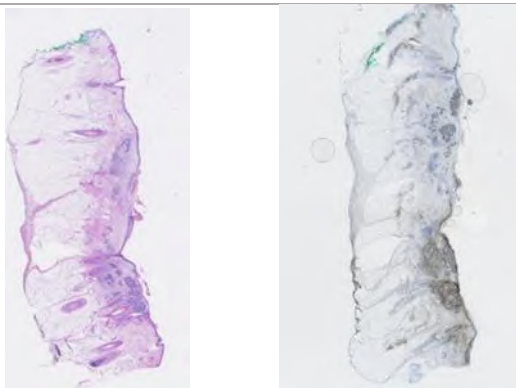
Versuchsreihe 24



170E

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

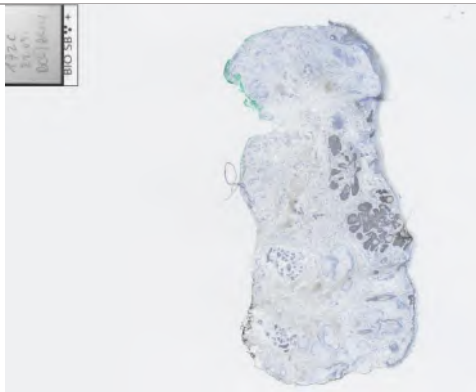
→positive Färbung



HE-Routine-Färbung IHC-Färbung

Vergleich der Färbungen: HE-Routine- und IHC-Färbung

Versuchsreihe 25

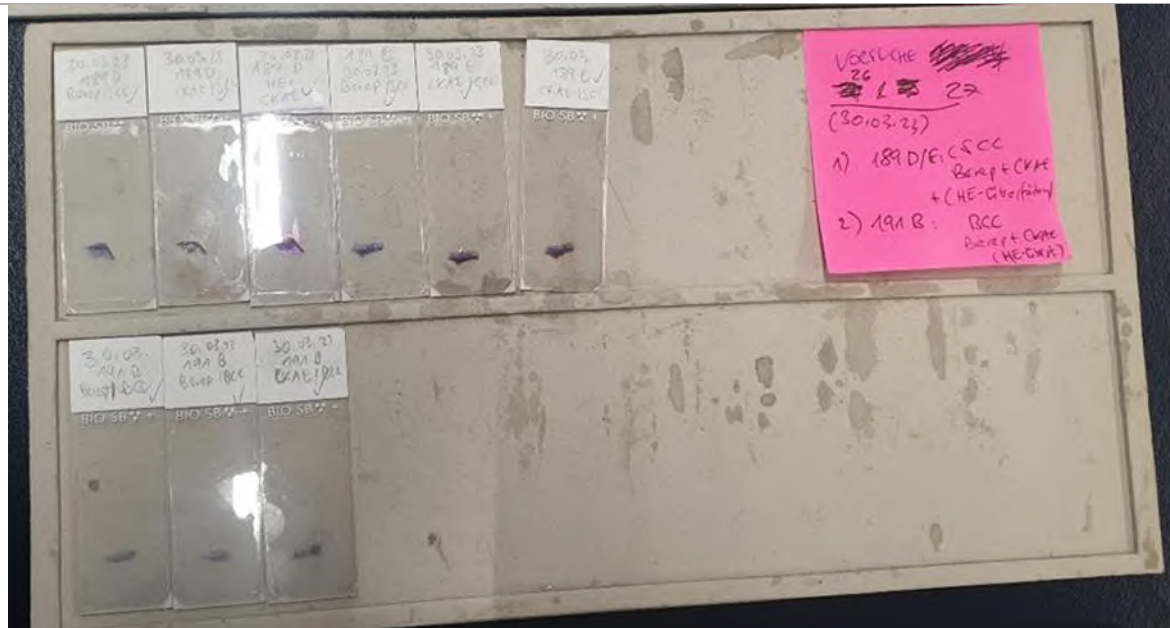


172C

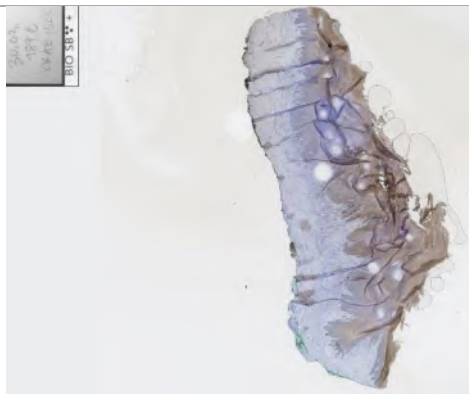
-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihen 26 und 27



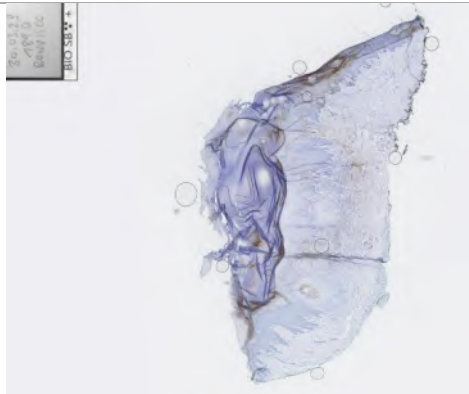
Versuchsreihe 26



189E

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→positive Färbung



189D

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→keine Färbung, richtig negativ

Versuchsreihe 27

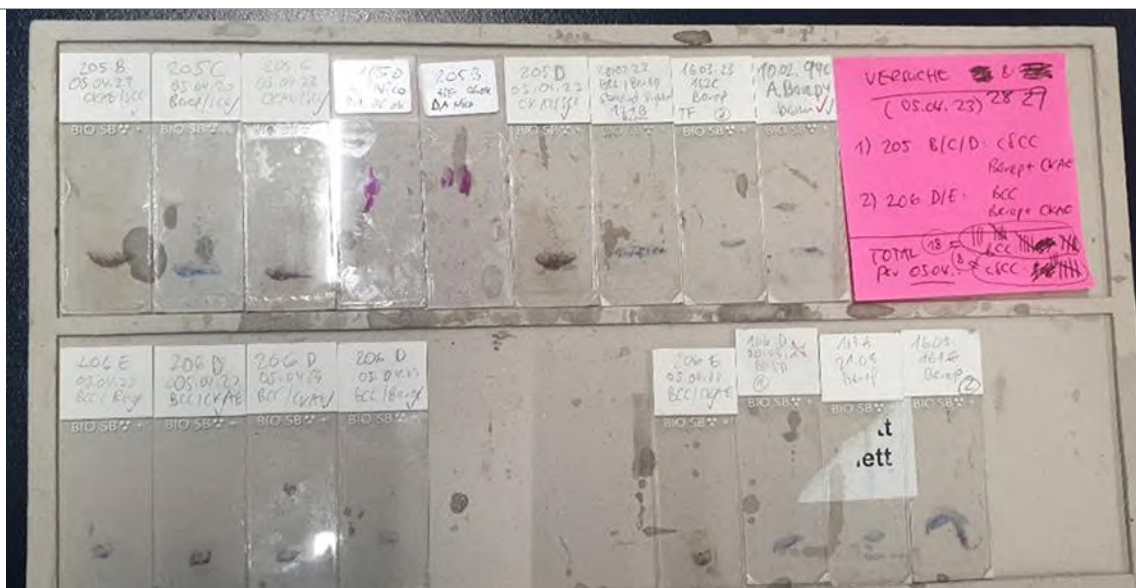


191B

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→positive Färbung

Versuchsreihen 28 und 29



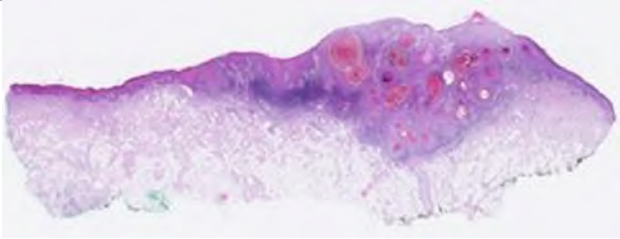
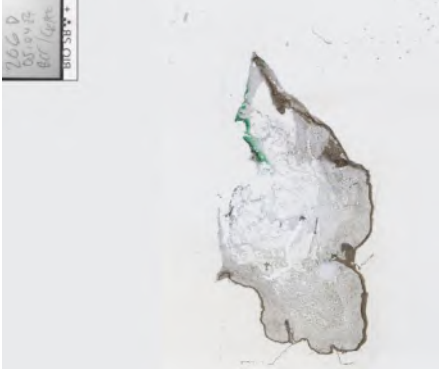
Versuchsreihe 28



205C

-Demaskierung mittels Tissue Primer
-braunes Kit

→positive Färbung

		205C -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →keine Färbung, richtig negativ
		
HE-Routine-Färbung		IHC-Färbung
Vergleich der Färbungen: HE-Routine- und IHC-Färbung		
Versuchsreihe 29		
		206D -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →positive Färbung
		206D -Demaskierung mittels Tissue Primer -braunes Kit →positive Färbung

Anhang 2

Zeitaufwand und Kostenpunkt

Zeitaufwand bei Immunhistochemie mittels TD

Die Zeit wurde wie folgt gemessen:

Startpunkt: nach ausgeführtem Kryostatschnitt und Aufziehen auf OT

Endpunkt: nach Eindecken der OT; OT bereit zur mikroskopischen Befundung

Versuchsreihe	Zeitaufwand [min]
7	51
11	43
25	29
27	26

Kostenpunkt bei Immunhistochemie mittels TD

	Preis nach Medite-Liste [CHF]	Inhalt Menge/Volumen pro Liefereinheit	Menge/ Volumen pro Versuch (2 OT)	Preis pro Versuch (2 OT) [CHF]
Objektträger	83	72	2	2.30
TintoFast AK (CK AE1/AE3, BerEP4) ready to use	408	3000 Mikroliter	200 Mikroliter	27.20
PolyDetector HRP braun ganzes Set	731	15000 Mikroliter	200 Mikroliter	9.75
Tissue Factor Ready to use	239	100000 Mikroliter	200 Mikroliter	0.50
Immunowasher*	116	200000 Mikroliter	2000 Mikroliter	1.15
Hematoxylin Ready to use	60	50000 Mikroliter	200 Mikroliter	0.25
AquaMounter** Ready to use	71	15000 Mikroliter	40 Mikroliter	0.20
Total (2 OT)				41.35
Total (1 OT)				20.70

***Immunowasher**: die Verbrauchsmenge kann nicht exakt determiniert werden.

Ausgegangen wird von: 1000ml gebrauchsfertiger Waschpuffer benötigt 50ml Immunowasher und 950ml destilliertes Wasser. Nach 5 Versuchsreihen werden jeweils 200ml des gebrauchsfertigen Waschpuffers komplett ausgewechselt.

****AquaMounter**: von diesem Eindeckmedium wird pro OT ein dicker Tropfen verwendet, dies entspricht 20 Mikrolitern

Anhang 3

Reagenzien

Name des Reagenzes/Verbrauchmaterials	Haltbarkeitsdatum	Volumen/Stückzahl der Liefereinheit	LOT-Nummer
Waschpuffer Bond Konzentrat	05/01/2025	1000ml	641200
(Demaskierung Bond) Bond Enzym Diluent	20/05/2024	200 ml	74310
(Demaskierung Bond) Bond Enzym Concentrate	20/05/2024	1 ml	74310
Tissue Primer	04/2025	100 ml	S500-K
Mohs ImmunoDigester	02/2026	50 ml	0326BCNB15
Buffer Mohs ImmunoDigester	02/2026	17 ml	0112CNB15
ImmunoDNA Washer	11/2025	200 ml	0150FML08
TintoFast EpCAM BerEP4	08/2025	3 ml	3680BML13 (1)
	08/2025	3 ml	3680BML13 (2)
	08/2025	7 ml	3680CNA26 (3)
TintoFast Cytokeratin AE1/AE3	09/2025	3 ml	3665BMI27 (1)
	10/2025	3 ml	3665TNB07 (2)
Hematoxylin Counterstainer	03/2025	50 ml	0028FML13
Aqua Mounter	08/2024	15 ml	0051FMD29 (1)
	06/2025	50 ml	0093BNC03 (2)
Detektionssystem Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System	12/2024	5 ml	0307SEML28 (1)
	03/2025	15 ml	0307OMI22 (2)
	07/2025	15 ml	0307PNC03 (3)
TintoDetector Absorbent Pads	-	10	7036VDG12 (1)
		10	7036VDG12 (2)
TintoDetector 30-Well Reagent Holder	-	5	7004SJJ04
TintoDetector Cap Gap Plus Slides	-	72	7006HKG27 (1)
		72	7006HKG27 (2)

S23.89

kempf und pfaltz
kempf und pfaltz

histologische diagnostik
histologische diagnostik

S23.89 -

Proben: 1
07.02.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

Schnellschnitt

adresse einsender/in

FMH Plastische und Aesthetische Chirurgie
Seefeldstrasse 4
8008 Zürich

patientenangaben

7094

HOK 1034

kopie an: *N. 112 Box besp., Dermatologi, Dermatologischer Praxis*
entnahmedatum: *2 2 22* rechnung an ☒ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital
G + Hr. [redacted] - lorgeu *HOK 1864*

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

Biopsie bestätigtes, dysplastisches, hoch superfizielles, solares Karzinom Handgelenk-CA
unter der Haut von der Läsion

lokalisation:

*=> sp. diff. Haut-Karzinom
exzidiert, bei 6 MO Nach-
kontrolle.*

=> Melanom?

benötigt

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten

onlinebestellung <http://www.kempf-pfaltz.ch> 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

kempf und pfaltz

histologische diagnostik

HEi

7. Schmelzschicht

S23.94 -
S23.95

Proben: 2
10.02.2023

8050 zürich
44 233 33 78

FMH Plastische und Aesthetische Chirurgie
Seefeldstrasse 4
8008 Zürich

5336

kopie an: 118 Un Tiedespul PNH Inner Rec. 2004
entnahmedatum: 10.2.03 / rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☐ kk ☒ spital

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

[illegible]

☐ einseidegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☒ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)
☐ einseideformulare ☐ einseidetüten ☐ onlinebestellung **affolternstrasse 66, postfach**

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

Proben: 1
14.02.2023



affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

A. S. Cornell & Co. inst.

9:25 6125

adresse einsender/in  FMH Plastische und Aesthetische Chirurgie Seefeldstrasse 4 8008 Zürich 	patientenangaben  plz/ort
---	---

kopie an: Dr. J. C. Eickstein, FMH Ad. Med., Ulmstr. 2A
 entnahmedatum: 19. 2. 23 rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ kk ☐ spital

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

Atypisch vergrößertes, am p.d.
sch. Hautfell-CA über dem
corpus zygomatisches l'us
→ Halbmondförmiges Haut-
lokalisierung: Detektierung, bei BUT lade-
man liest.
=> Schmutzblätter?
Laut + 1/2
Nem

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

bitte senden sie uns

☐ einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)
☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

S23.100

kempf und pfaltz kempf und pfaltz	histologische diagnostik histologische diagnostik
S23.100 - Proben: 1 14.02.2023	
affolternstrasse 96, postfach 8050 zürich telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78	

adresse einsender/in Oberdorfstrasse 20 8820 Wädenswil 	patientenangaben nan vor geb str plz/ort
---	--

kopie an: _____ 09:47 AST
 entnahmedatum: 14.2.23 14 rechnung an ☒ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

1

☐ totalexzision ☐ probeexzision ☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch ☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF) aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)	DPA/AST 23 32 12 20x14 HEK FM
klinische angaben/differentialdiagnose: I = 2 (ES=rot)	
lokalisation: FM	
☐ photo als beilage/per e-mail ☒ (S) frühere histologie (institut, jahr, nr.):	

2

☐ totalexzision ☐ probeexzision ☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch ☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF) aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)	6 B C 3 D 61-230 FK
klinische angaben/differentialdiagnose: xxx	
lokalisation: E F	
☐ photo als beilage/per e-mail ☐ (S) frühere histologie (institut, jahr, nr.):	

bitte senden sie uns
 einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)
☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch
 affolternstrasse 96, postfach 8050 zürich
 telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

kempf und pfaltz

523.103

Proben: 1
15.02.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

Moh's Schnellschnitt!

adresse einsender/in

FMH Dermatologie und Venerologie
Unterer Graben 25
8400 Winterthur

21037

SANITAS Krankenversiche

10.43 AM
15.02

kopie an: _____

entnahmedatum: 15. 2. 23 rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

1

☒ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☒ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: **BCC - Exzision**

lokalisierung: **Rechter Nasenflügel**

Faden markiert

17x8 Sp^{FM} - (C)

bei 12⁰⁰ Uhr

☐ photo als beilage/per e-mail

frühere histologie (institut, jahr, nr.): **22-100759**

11:44

2

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: **nod + squam T K 30**

lokalisierung: **+ NF**

FM

Diagramm: Ein schematisches Diagramm eines Nasenflügels mit einer Gitterstruktur. Die Spalten sind von links nach rechts mit den Buchstaben F, E, D, C, B, A beschriftet. Die Zeilen sind von oben nach unten mit 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 beschriftet. Ein Punkt ist mit einem Sternchen (*) markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit 'X' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit 'S' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '9' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '4' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '5' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '6' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '7' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '8' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '10' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '11' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '12' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '13' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '14' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '15' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '16' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '17' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '18' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '19' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '20' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '21' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '22' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '23' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '24' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '25' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '26' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '27' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '28' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '29' markiert. Ein Bereich ist mit einem Kreis umgeben und mit '30' markiert.

☐ photo als beilage/per e-mail

frühere histologie (institut, jahr, nr.): _____

bitte senden sie uns

einsendeflässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

S23.110

Kempf und Pfaltz

S23.110 - S23.111
Proben: 2
21.02.2023

histologische diagnostik
Münsterstrasse 56, Postfach, 8050 Zürich
Telefon 044 233 83 77, fax 044 233 83 78
g. 24 HAV

adresse einsender/in
[redacted]
Oberlandstrasse 100
8610
Uster

patientenangaben
59031
name [redacted]
vorname [redacted]
geburtsdatum [redacted]
geschlecht ☐ W ☒ M
strasse [redacted]
plz/ort [redacted]

rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ kkk ☐ hospital
kopie an: Roman Peterson, 8604 Volketswil, 760100089

entnahmedatum: 21.02.2023 09:05

Lokalisation ☐ Nasenflügel links
klinische angaben / differentialdiagnose
Szirrhöses Basalzellkarzinom Nasenflügel FM
Faden kurz= cranial
Resektionsränder?
Bitte Befund an [redacted]

Lokalisation ☐ Nasenspitze
klinische angaben / differentialdiagnose
V.a. Basalzellkarzinom Nasenspitze FM
Faden kurz= cranial
Resektionsränder?
Bitte Befund an [redacted]

TE PE MGC
☐ ☐ ☒
S C P
☐ ☐ ☐
F M A-F-
☐ ☒ gest

① Lesion 2. Basis TK 10/11
② 0.5cm

110 (1) 20x15 SP FM
111 (2) 9x5 SP FM

totaler tumor
- oberflächlich
- Schichtkontrollen
- mikroskopisch
- kontrollierte chirurgie
S - sklavazation
C - curettage
P - punch
F - formelin
M - mikroskopische lösung?
NACI 0.9 %

A-D: gest

☒ frühere histologie (institut, jahr, nr.): B2023-8869
☐ photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

bitte senden sie uns
einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)
☐ einsendeformulare ☐ einsondetüten ☐ mikroskopische lösung online bestellung: www.kempf-pfaltz.ch

S23.114

kempf und pfaltz
kempf und pfaltz

histologische diagnostik
histologische diagnostik

S23.114
1/1
21.02.2023
lösch. & neu vergeben

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

adresse einsender/in

FMH Dermatologie und Venerologie
Unterer Graben 25
8400 Winterthur

Pat.Nr.: 20278

HERUN

kopie an:

entnahmedatum: 21.02.23

rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

1

☒ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch
☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☒ NaCl 0,9 % (DIF)
aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: Mohs operation
22-128781: Noduläre und szirröse
Reste der vorherbeschriebenen
Basalzellkarzinom

lokalisierung: Schläfe li.
Fadenmarkien 12 Uhr

☐ photo als beilage/per e-mail

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

2

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch
☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)
aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: 17x11 Ex FM

lokalisierung: B

☐ photo als beilage/per e-mail

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch
affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

Kempf und Pfaltz

S23.115 -

histologische diagnostik

Proben: 1
21.02.2023

Höfenerstrasse 56, postfach, 8050 Zürich
Telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

10:05 GFS

1435

adresse einsender/in

Oberlandstrasse 100

8610

Uster

patientenangaben

72774

name

vorname

geburtsdatum

geschlecht

☒ W

☐ M

strasse

plz/ort

rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ kk ☐ spital

kopie an: Christoph Schmidli, 8620 Wetzikon ZH, 7601C

entnahmedatum: 21.02.2023 09:10

VHG/FAE

Lokalisation

☐ Nasenwurzel

klinische angaben /
differentialdiagnose

V.a. Plattenepithel-CA Glabella
faden cranial 12 Uhr
Malignität?
Bitte Befund an Dr. [redacted]

30x25 Hex F-A

Lokalisation

klinische angaben /
differentialdiagnose

②

nod.
g-lo

TE PE MGC

☐ ☐ ☒

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☒ ☐

☐ ☐ ☐

TE PE MGC

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

TE PE MGC

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ ☐ ☐

☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.): ☐ photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

bitte senden sie uns

einsendegefässe:

☐ klein (5ml)

☐ mittel (40ml)

☐ gross (250ml)

☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare

☐ einsendetüten

☐ michel'sche lösung

online bestellung: www.kempf-pfaltz.ch

kempf und pfaltz

histologische diagnostik

histologische diagnostik

kempf und pfaltz

S23.116 -

Proben: 1
22.02.2023

Stfach, 8050 zürich
telefon 044 233 3377, fax 044 233 33 78

M. Schmitt

adresse einsender/in	patientenanfragen
FMH Plastische und Aesthetische Chirurgie Seefeldstrasse 4 8008 Zürich 	
	plz/ort

kopie an: Dr. J. H. Kistner, Tübingen, Dermatolog, HSK
entnahmedatum: 22.2.22 rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☐ kk ☒ spital

☐ totalexzision ☐ probeexzision *Tali*

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF) *32 x 12 SP F*

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

*Hoptisch verifiziertes solides (?)
basalzell-carzinom, tumordicke 20
benigna rechts. 32, m. k.*

lokalisation: *-, spindelförmiges Hant-
Nidulitexzision, bei 90°
spalten markiert.*

*=> Solunitäre?
benign / - k
A-J = 8
Bern*

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch
affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

S23.119

kempf und pfaltz

histologie

BCC

S23.119 -

Proben: 1
22.02.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

adresse einsender/in

[redacted]

Schaffhauserstrasse 355
8050 Zürich

[redacted]

[QR code]

patientenangaben

name [redacted]

vorname [redacted]

geburtsdatum, geschlecht [redacted]

strasse [redacted]

plz/ort [redacted]

kopie an:

entnahmedatum: 22.2.23.

rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ pk ☐ spital

1

☒ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

lokalisierung:

21x4 sp Fm

Notiz zu B23-74635 zu 6.9 Uhr

F, der kurz 6 Uhr

lung 1 Uhr

→ Rest in hand? 511A2

☐ photo als beilage/per e-mail

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

2

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

lokalisierung:

Fm

lung

= 9h

%

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

bitte senden sie uns

einsendeflässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

S23.120

kempf und pfaltz

histologische diagnostik

kempf und pfaltz

S23.120 -

Proben: 1
24.02.2023

historische diagnostik
asse 56, postfach, 8050 zürich
44 233 33 77, fax 044 233 33 78

adresse einsender/in

[redacted]

Oberlandstrasse 100

8610

Uster

patientenangaben 45636

name [redacted]

vorname [redacted]

geburtsdatum [redacted]

geschlecht ☐ W ☒ M

strasse [redacted]

plz/ort [redacted]

rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ kkk ☐ spital

kopie an: [redacted]

entnahmedatum: 24.02.2023 14:58

GPS 178N 09:05
uhr

Lokalisation ☐ Stim links

klinische angaben /
differentialdiagnose

Gut differenziertes spinozelluläres Karzinom
(Plattenepithelkarzinom der Haut), bis ins mittlere Korium
reichend (Tumordicke: 1,8 mm) (Stirn links kaudal; Ihre Nr. 1)
- Faden cranial, Resektionsränder?
Bitte Befund an Dr. [redacted]

TE	PE	MGC
☐	☐	☒
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

Lokalisation ②

klinische angaben /
differentialdiagnose

32 x 24 Hex Fm →

TE	PE	MGC
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

TE - totaler tumor
PE - peritumorales
MGC - metastasen
S - sekundäre
C - chronische
F - funktionelle
M - mechanische

☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.): ☐ photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

bitte senden sie uns

einblendefläche: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra-gross (750ml)

☐ einblendeformulare ☐ einblendebücher ☐ michel'sche lösung online bestellung: www.kempf-pfaltz.ch

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

kempf und pfaltz

afroldernstr.
telefon 044

S23.121 -

Proben: 1
28.02.2023

adresse einsender/in

[redacted]

Oberlandstrasse 100
8610
Uster

patientenangaben 72808

name [redacted]
vorname [redacted]
geburtsdatum [redacted]
geschlecht ☒ W ☐ M
strasse [redacted]
plz/ort [redacted]

rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ kkk ☐ spital

entnahmedatum: 28.02.2023 12:10

kopie an: [redacted]

8:54 6/25

Lokalisation ☐ Stirn mittig

klinische angaben /
differentialdiagnose

Noduläres, teils scirrhöses Basalzellkarzinom (Tumordicke: 0,8 mm) Stirn rechts
Faden cranial 12 Uhr
Bitte Befund an Dr. [redacted]

30M / DPP

Lokalisation ②

klinische angaben /
differentialdiagnose

TE PE MGC

☐	☐	☒
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

TE - totalresektion
PE - prothese
MGC - schrittkontrolle /
mikroskopische
kontrollierte chirurgie

S - schavanzion
C - curettage
P - punch
F - formalin
M - michel'sche lösung /
NaCl 0,9 %

30 x 20 Hex PM

☒ frühere histologie (institut, jahr, nr.): 23-13466

☐ photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendelüten ☐ michel'sche lösung

online bestellung: www.kempf-pfaltz.ch

kempf und pfaltz
kempf und pfaltz

histologische diagnostik
histologische diagnostik

S23.125 -

Proben: 1
28.02.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

SCHNELLSCHNITT !

adresse einsender/in

FMH Plastische Chirurgie
Klinik Tiefenbrunnen
Dammstrasse 29
8702 Zollikon
Tel. 044 397 17 17
Fax 044 397 17 18

13:51 qpl

10981 (F)

Garant

kopie an: Dr. med. [redacted]

entnahmedatum: 28.02.23

rechnung an ☒ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

1

☒ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: Basalzellkarzinom

lokalisation: Glabella rechts

18x9 SpFM

☐ photo als beilage/per e-mail

frühere histologie (institut, jahr, nr.): FM

api / abn

2

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

lokalisation: S-

☐ photo als beilage/per e-mail

frühere histologie (institut, jahr, nr.):

A-G -st

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

histologische diagnostik

S23.161 -

Proben: 1
16.03.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

14:03 alp

adresse einsender/in

FMH Plastische Chirurgie
Klinik Tiefenbrunnen
Dammstrasse 29
8702 Zollikon

Telefon Privat
Telefon Geschäft
Mobile
HA
UA
Garant

Code
Geburtsdatum
AHV-Nr.

kopie an: Traumazentrum

entnahmedatum: 16.3.23 rechnung an ☒ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

1

☒ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: *Basaliom*

lokalisierung: *Skalp okzipital
FM: lang anterior 12 uhr
kurz linksseitig 9 uhr*

☐ photo als beilage/per e-mail ☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.)

2

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

lokalisierung:

☐ photo als beilage/per e-mail ☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.):

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

histologische diagnostik

S23.162 - S23.163
Proben: 2
16.03.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

2 Schnell-Lösung

adresse einsender/in

FMH Plastische und Ästhetische Chirurgie
Seefeldstrasse 4
8008 Zürich
Tel. 043 244 82 44
Fax 043 244 82 45

patientenangaben

P: [redacted]
G: [redacted] N: [redacted]

plz/ort

kopie an:

entnahmedatum: 16.3.23 rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☐ kk ☒ spital

☐ totalexzision ☐ probeexzision Tel.: [redacted]

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose:

① Haplocl varifiziertes sklerodermiformes
Basalzell-CA (H. faller) an der
Nase Spitze
→ Tropfenförmiges Haut-Neckel
excisat, bei 1200 fad-mass
= 2 cm 40-60?

lokalisation:

② Haplocl varifiziertes, solides, tiefes
superfiziell Basalzell-CA Kopf-Hals
Läsion (Nase + Wange)
→ spindelförmiges Haut-Neckel
excisat, bei 3000 fad-mass
= 2 cm 40-60?

frühere histologie (institut, jahr, nr.): photo ☐ als beilage ☐ per e-mail

bitte senden sie uns

einsendeflässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

histologische diagnostik

kempf und pfaltz

histologische diagnostik

S23.166 - S23.167
Proben: 2
20.03.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

M.55 m

adresse einsender/in  Hardturmstrasse 161 8005 Zürich Tel:  Fax: 	patientenangaben 
--	---

kopie an:

entnahmedatum: 20.3.23

rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ kk ☐ spital

1

☒ totalexzision	☐ probeexzision
☐ shaveexzision	☐ curettage ☐ punch
☐ formalin	☐ michel'sche lösung ☒ NaCl 0,9 % (DIF)
aufarbeitung:	☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)
klinische angaben/differentialdiagnose:	lokalisierung:
Vd. a. BCC <i>hinter</i> Wange <i>re. 8/10</i> → <i>hinter</i> FM. 12 Uhr <i>lauf</i> 6 Uhr <i>für</i> <i>zweiter schritt</i> <i>heute geplant</i>	
☐ photo als beilage/per e-mail	frühere histologie (institut, jahr, nr.):

2

☒ totalexzision	☐ probeexzision
☐ shaveexzision	☐ curettage ☐ punch
☐ formalin	☐ michel'sche lösung ☒ NaCl 0,9 % (DIF)
aufarbeitung:	☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)
klinische angaben/differentialdiagnose:	lokalisierung:
Gleiche Vd. Diagnose <i>lateral davon</i>	
☐ photo als beilage/per e-mail	frühere histologie (institut, jahr, nr.):

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

histologische diagnostik

kempf und pfaltz

histologische diagnostik

SCHNELLSCHNITT !!

S23.169 -

Proben: 1
21.03.2023

aff. tern
telefon

zürich
33 78

10:01 SP

adresse einsender/in

FMH Plastische Chirurgie
Klinik Tiefenbrunnen
Dammstrasse 29
8702 Zollikon

HA
UA
Garant

kopie an: Hautwerk, Dr.

entnahmedatum: 21.03.2023 rechnung an ☒ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

Sm/ABN

☒ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: noduläres Basalzellkarzinom
(s. Beilage)

lokalisierung: Ala nasi rechts
Fu: kranial

☐ photo als beilage/per e-mail ☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.):

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: 12x9 HEx FM

lokalisierung: 10²² 82
gr 108

☐ photo als beilage/per e-mail ☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.):

bitte senden sie uns

einsendeflässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) **affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich**
☐ einsendeformulare ☐ einsendefläten ☐ michel'sche lösung **telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch**
 onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch

Kempf und Pfaltz
Kempf und Pfaltz

histologische Diagnostik
histologische Diagnostik

**S23.170 -
S23.171**

Proben: 2
22.03.2023

2 V. Colonicum

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

adresse einsender/in FMH Plastische und Aesthetische Chirurgie Seefeldstrasse 4 8008 Zürich 	patientenangaben
kopie an: <i>Dr. J. H. ...</i> entnahmedatum: <i>20.11.11</i>	rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☐ kk ☒ spital

☐ totalexzision	☐ probeexzision	Tel: [redacted]		DAH/Hei
☐ shaveexzision	☐ curettage	☐ punch		
☐ formalin	☐ michel'sche lösung	☐ NaCl 0,9 % (DIF)		
aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)				
klinische angaben/differentialdiagnose:				
① Dysplast. vort. atyp. compound-solides desmoplastisches basaloid-CA L-10- parietal n. cells. => 1.2.2007 Haut-Neurodermatose, bei 6.11.07 nach-mal-lact. => Tel mit 0 200?				
lokalisation:				
② Dysplast. vort. hyperkeratoidisches plattenepitheliales CA in tota (17.8.07) parietal L. cells. => 1.2.2007 Haut-Neurodermatose, bei 2.11.07 nach-mal-lact. => Tel mit 0 200? => Malignom des Kopf-CA				
frühere histologie (institut, jahr, nr.):				
photo ☐ als beilage ☐ per e-mail Kempf-Haatz Bonn				
bitte senden sie uns				
☐ einsendeflässe:	☐ klein (5ml)	☐ mittel (40ml)	☐ gross (250ml)	affoltenstrasse 56, postfach, 8050 zürich
☐ einsendeformulare	☐ einsendetüten	☐ michel'sche lösung	telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-haatz.ch	onlinebestellung: www.kempf-haatz.ch

S23.172

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

kempf und pfaltz

Schnellschnitt
Schnitthautentnahme

histologische diagnostik

W
4

g. 30 Uhr

S23.172 -

Proben: 1
22.03.2023



Herr

FMH Dermatologie und Venerologie
Zürichstrasse 5

Labor Eingang: 01.03.2023 (vkr)
Labor Ausgang: 02.03.2023 (sam)

B 23-24066

Diagnose

Basalzellkarzinom, bis ins tiefe Korium reichend (Tumordicke: 1,5 mm)
(Augenunterlid links, ungefähr in der Pupillarinie; Ihre Nr. 7)
(Probeexzision)

Exzisionsstelle

Augenunterlid links, ungefähr in der Pupillarinie; Ihre Nr. 7

Klinische Angaben

Mögliches Basalzellkarzinom, PE (Ihre Nr. 7).

Vorbefunde

Kempf und Pfaltz B21-4518

Makroskopie

3 mm im Durchmesser messendes rundes Hautexzizat (Masse nach Fixation).

Schwerpunkt Molekularpathologie
International Board Certification in Dermatopathology

Dieses Dokument wird nicht handschriftlich unterzeichnet, sondern mittels elektronischer Signatur freigegeben.

Die Befundergebnisse beziehen sich ausschliesslich auf das eingesandte Material. Dieser Bericht darf nicht auszugsweise kopiert werden. Die Weiterverwendung der Diagnosen mit Quellenangaben ist gestattet. Informationen zu den verwendeten Prüfverfahren können auf Anfrage bei uns eingeholt werden. Der Empfänger ist nach Befundübermittlung für die Wahrung des Datenschutzes und des Arztgeheimnisses verantwortlich.

89.82



affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

histologische diagnostik

kempf und pfaltz

S23.174

kempf und pfaltz histologische diagnostik

SCHNELLSCHNITT !

S23.174 -

Proben: 1
22.03.2023

affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

adresse einsender/in

FMH Plastische Chirurgie
Klinik Tiefenbrunnen
Dammstrasse 29
8702 Zollikon

Telefon Privat
Telefon Geschäft
Mobile
HA
UA
Garant

Code
Geburtsdatum
AHV-Nr.

kopie an:

entnahmedatum: 22.03.23

rechnung an ☒ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

☒ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: Gut differenziertes
spinozelluläres Karzinom
(s. Beilage)

lokalisierung: Nasennäcken
FM: distal

☐ photo als beilage/per e-mail ☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.):

☐ totalexzision ☐ probeexzision

☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch

☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)

aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)

klinische angaben/differentialdiagnose: GA SCC - RBL
RA kam / S 3,0

lokalisierung: blau
gerade Kerbe 4,5
ST durch

☐ photo als beilage/per e-mail ☐ frühere histologie (institut, jahr, nr.):

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

S23.189

kempf und pfaltz
 histologische diagnostik
 kempf und pfaltz
 histologische diagnostik
 SCHNELLSCHNITT
 S23.189 -
 Proben: 1
 29.03.2023
 8050 zürich
 4 233 33 78

adresse einsender/in

[REDACTED]

FMH Plastische Chirurgie
Klinik Tiefenbrunnen
Dammstrasse 29
8702 Zollikon

[REDACTED]

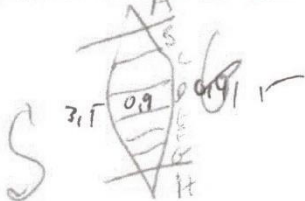


Garant [REDACTED]

kopie an: [REDACTED] USZ Dermatologie, Rämistr. 100, 8006 ZH
entnahmedatum: 29.03.23 rechnung an ☒ patient ☐ arzt ☐ kk ☐ spital

☒ totalexzision ☐ probeexzision ☐ shaveexzision ☐ curettage ☐ punch ☐ formalin ☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF) aufarbeitung: ☒ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)		27 x 10 SP Staden!
klinische angaben/differentialdiagnose:		lokalisation:
Plattenepithelkarzinom		Hand links
☐ photo als beilage/per e-mail		frühere histologie (institut, jahr, nr.):

2

☐ totalexzision	☐ probeexzision
☐ shaveexzision	☐ curettage ☐ punch
☐ formalin	☐ michel'sche lösung ☐ NaCl 0,9 % (DIF)
aufarbeitung:	☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)
klinische angaben/differentialdiagnose:	lokalisierung:
	DE: ST A-E = 8 F-H = 8 SCC 91 mit CH, LO td/- A.F.-06
☐ photo als beilage/per e-mail	frühere histologie (institut, jahrrr.:

bitte senden sie uns

☐ einseendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)
☐ einseendeformulare ☐ einseendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: www.kempf-pfaltz.ch
 affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
 telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

S23.191

kempf und pfaltz

histologische diagnostik

kempf und pfaltz

histologische diagnostik

S23.191 -

Proben: 1
29.03.2023



affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78

15:18 6P3

adresse einsender/in

Oberdorfstrasse 20
8820 Wädenswil



Beruf:
Telefon:
Arbeitg.:
KVG Vers.
KK-Nr.:
UVG Vers.

kopie an:

entnahmedatum: 29.3.23 AS rechnung an ☐ patient ☐ arzt ☒ kk ☐ spital

1

☐ totalexzision	☐ probeexzision	6P3/ARZ 9x8 11x8
☐ shaveexzision	☐ curettage	☐ punch
☐ formalin	☐ michel'sche lösung	☐ NaCl 0,9 % (DIF)
aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)		
klinische angaben/differentialdiagnose:		lokalisierung:
SBirrh. BCC weise 12mm		Nasenspitze links
☐ photo als beilage/per e-mail		frühere histologie (institut, jahr, nr.):

2

☐ totalexzision	☐ probeexzision	6P3/ARZ 9x8 11x8
☐ shaveexzision	☐ curettage	☐ punch
☐ formalin	☐ michel'sche lösung	☐ NaCl 0,9 % (DIF)
aufarbeitung: ☐ schnittrandkontrolle/mikrographisch kontrollierte chirurgie (MGC)		
klinische angaben/differentialdiagnose:		lokalisierung:
Baso nod. + squam. MK tot dies 40% b. 1,0		Nasenspitze links
☐ photo als beilage/per e-mail		frühere histologie (institut, jahr, nr.):

bitte senden sie uns

einsendegefässe: ☐ klein (5ml) ☐ mittel (40ml) ☐ gross (250ml) ☐ extra gross (750ml)

☐ einsendeformulare ☐ einsendetüten ☐ michel'sche lösung onlinebestellung: affolternstrasse 56, postfach, 8050 zürich
telefon 044 233 33 77, fax 044 233 33 78, www.kempf-pfaltz.ch

S23.130

Wird noch ergänzt

S23.205

Wird noch ergänzt

S23.206

Wird noch ergänzt

Anhang 5

Färbeprotokoll



5-10 Minuten Mohs IHC Protokolle für Gefrierschnitte



Gefrierschnitte:

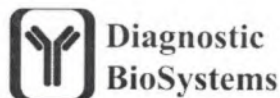
1. Proben im Kryostat in OCT einbetten
2. Kryoschnitte von 4-5 µm Dicke auf positiv geladene Objektträger aufziehen (TintoDetector Cap Gap Plus)
3. 2 Minuten an der Luft trocknen
4. 3 Minuten bei 60°C im Ofen oder im Tinto Detector inkubieren
5. 2 Minuten in 100% Aceton fixieren
6. 2 Minuten an der Luft trocknen

Detektionssystem		Mohs PolyDetector HRP Green or DAB		
Schritt	Reagenz	Protokoll		
		ca. 5 Minuten	ca. 10 Minuten	
Schritt 1	Vorbehandlung Mohs (Demaskierung)	Mohs ImmunoDigester Inkubieren bei 37°C oder Raumtemperatur	1 min	1 min
Schritt 2	Waschen	Aqua Dest.	10-20 sec	10-20 sec
Schritt 3	Block	Peroxidase/AP Blocker (im Mohs PolyDetector Kit enthalten) (kann entfallen, bei Gewebe ohne endogene Peroxidase-Aktivität)	30 sec	30 sec
Schritt 4	Waschen	ImmunoDNA washer	10-20 sec	10-20 sec
Schritt 5	Primärer Antikörper		2 min	4 min
Schritt 6	Waschen	ImmunoDNA washer	10-20 sec	10-20 sec
Schritt 7	Detektion	Fast Mohs Fab PolyDetector Kit HRP Green oder DAB HRP Brown	1 min	3 min
Schritt 8	Waschen	ImmunoDNA washer	10-20 sec	10-20 sec
Schritt 9	Chromogen	DAB Brown oder Green (im Mohs PolyDetector Kit enthalten)	1 min	2 min
Schritt 10	Waschen	ImmunoDNA washer	10-20 sec	10-20 sec
Schritt 11	Gegenfärbung	HE	30 sec	30 sec
Schritt 12	Waschen	ImmunoDNA washer	10-20 sec	10-20 sec
Schritt 13	Eindecken	wässrig, z.B. BioSB AquaMounter oder permanent mounting media, z.B. BioSB PermaMounter	30 sec	30 sec

Anhang 6

Packungsbeilagen

Tissue Primer



Tissue Primer

Catalog Number: K054

Document #: DS-2035-A
Effective Date: 2/1/2015

Intended Use

For In Vitro Diagnostic Use.

Product Description

Tissue Primer is a universal enzyme blocking reagent to use in horse radish peroxidase (HRP) and alkaline phosphatase (AP) based immunohistochemical staining procedures done on paraffin tissue sections, frozen tissue sections and cell smears to suppress nonspecific staining due to endogenous enzyme activity.

Summary and Explanation

In the evaluation of tissue specimens by IHC using HRP and AP methods, the presence of endogenous enzymes can often obscure the specific staining of the target antigen. Endogenous peroxidase and AP activity can be inhibited by the use of Tissue Primer which will suppress endogenous peroxidase, pseudoperoxidase, and alkaline phosphatase in paraffin tissue sections, frozen tissue sections and cell smears.

Format

Clear ready to use solution

Volume/UOM
100 mL

Storage and Handling

Light sensitive. Store at 2-8°C in dark bottle and/or area. Do not freeze. Do not use after expiration date printed on label.

Preparation of Working Solutions

1. Tissue Primer is ready to use and does not require any preparation.

Protocol Recommendations

1. For paraffin-embedded tissues, deparaffinize using standard histological methods.
2. Perform any required pre-treatment steps (such as antigen retrieval) prior to using Tissue Primer.
3. Incubate deparaffinized tissue sections, frozen tissue sections or cell smears for 5-10 minutes at room temperature prior to applying primary antibody.
4. Rinse tissue with immuno wash buffer after incubation with Tissue Primer and proceed to the next step.

Quality Control

Refer to CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2). CLSI Wayne, PA, USA (www.clsi.org). 2011.

Troubleshooting

IHC Made Affordable

Contact Diagnostic BioSystems Technical Support at (925) 484-3350, extension 2, techsupport@dbiosys.com or your local distributor to report unusual staining results.

Warranty

There are no warranties, expressed or implied, which extend beyond this description. Diagnostic BioSystems is not liable for property damage, personal injury, or economic loss caused by this product.

Performance Characteristics

The protocols for a specific application can vary. These include, but are not limited to: fixation, heat-retrieval method, incubation times, tissue section thickness and detection kit used. Due to the superior sensitivity of these unique reagents, the recommended incubation times and titers listed are not applicable to other detection systems, as results may vary. The data sheet recommendations and protocols are based on exclusive use of Diagnostic BioSystems products. Ultimately, it is the responsibility of the investigator to determine optimal conditions. These products are tools that can be used for interpretation of morphological findings in conjunction with other diagnostic tests and pertinent clinical data by a qualified pathologist.

Precautions

1. Wear disposable gloves when handling reagents.
2. Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water.
3. Microbial contamination of reagents may result in an increase in nonspecific staining.
4. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. The user must validate any such change.
5. Do not use reagent after the expiration date printed on the label.
6. The MSDS is available upon request.
7. Consult OSHA, federal, state or local regulations for disposal of any toxic substances.



Diagnostic BioSystems
6616 Owens Drive
Pleasanton, CA 94588
Tel: (925) 484 3350
www.dbiosys.com



Fmergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP, The Hague
The Netherlands
Tel: (31) (0) 70 345 8570

Mohs ImmunoDigestor



Intended Use

For Mohs In Vitro Diagnostic Use.

This **Mohs ImmunoDigestor** is intended to be used as an epitope retrieval pre-treatment of Mohs frozen tissue sections. Interpretation of results should be performed by a qualified medical professional.

Summary and Explanation

The **Mohs ImmunoDigestor** is used for the enzymatic digestion of frozen tissues prior to immunohistochemical (IHC) procedures. The enzymatic digestion of frozen tissues fixed with acetone or NBF 10%, improves accessibility of antibodies to epitopes within tissue sections. In the case of IHC, proteolytic digestion exposes certain epitopes which have been masked during fixation, especially with NBF10%.

Presentation

The **Mohs ImmunoDigestor** is provided in a concentrated form with a dilution buffer. It contains optimized Proteinase K, a buffer solution, detergents, and sodium azide anti-microbial.

Catalog No.	Dilution	Mohs ImmunoDigestor	Mohs ImmunoDigestor buffer
BSB 0324	1:4	5 mL	15 mL
BSB 0325	1:4	17 mL	50 mL
BSB 0326	1:4	34 mL	100 mL

Storage Store at 2-8°C

Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use and avoid prolonged exposure to room temperature conditions.

Precautions

1. For professional users only. Results should be interpreted by a medical professional.
2. This product contains <0.1% sodium azide (NaN₃) as a preservative. Ensure proper handling procedures are used with this reagent.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution according to local and federal regulations.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. For complete recommendations for handling biological specimens please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (1).

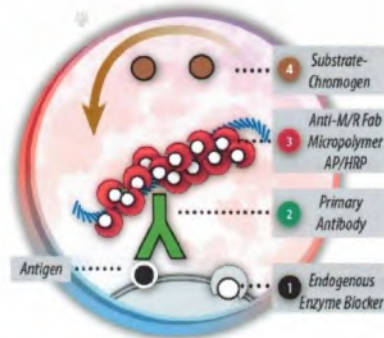
Preparation of Working Solution

Mohs ImmunoDigestor is diluted with the Mohs ImmunoDigestor buffer before use. Mix 250µL of Mohs ImmunoDigestor with 750µL of Mohs ImmunoDigestor buffer (1 part Mohs ImmunoDigestor and 3 parts Mohs ImmunoDigestor buffer).

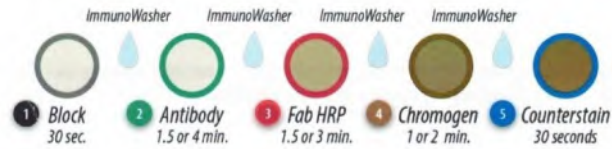
Recommended Protocol

1. For Frozen Mohs sections fixed for 2 min. with Acetone or 10% NBF 10%, incubate slides with ImmunoDNA Digestor for 1 minute at 37°C or at room temperature.
2. Rinse slides briefly in distilled or deionized water (10-20 seconds).
3. Proceed with Mohs IHC protocol.

Abbreviated Mohs Immunohistochemical Protocol



Step	Mohs PolyDetector HRP Green or DAB 5 min Protocol	Mohs PolyDetector HRP Green or DAB 10 min Protocol
Peroxidase Blocker	0.5 min.	0.5 min.
Primary Antibody	2 min	4 min.
1st Step Detection	1 min	3 min.
Substrate-Chromogen	1 min	2 min.
Counterstain / Coverslip	0.5 min	0.5 min.



Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established using positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

	Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	Manufacturer Fabricant Hersteller	REF	Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis	LOT

Bio SB
BIOIMPACT FOR THE WORLD

5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

PolyDetector Peroxidase Blocker

PI 0054, Ver. 6 DCN: 4236

PolyDetector Peroxidase Blocker



Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD

www.biosb.com

Intended Use

For In Vitro Diagnostic Use.

Summary and Explanation

The PolyDetector Peroxidase Block is a peroxidase free solution used to block the endogenous peroxidase enzymes and transition metals that naturally occur in paraffin-embedded tissues, cryostat sections, blood smears, cytosmears, and cell preparations.

Blocking endogenous peroxidase activity is a necessary step when performing immunohistochemistry and CISH applications utilizing a horseradish peroxidase enzyme (HRP) label. If this step is eliminated from the protocol, endogenous peroxidase enzymes or transition metals may cause the chromogen to precipitate, thereby causing background or nonspecific staining to occur. Using this reagent eliminates this possibility.

Presentation

The PolyDetector Peroxidase Block is provided in liquid form ready-to-use. It contains a PBS buffer, reagents, stabilizers and sodium azide as anti-microbial.

Catalog No.	Concentration	Volume
BSB 0050	Ready-to-use	15 mL
BSB 0051	Ready-to-use	50 mL
BSB 0052	Ready-to-use	100 mL
BSB 0053	Ready-to-use	200 mL
BSB 0054	Ready-to-use	1000 mL

Storage Store at 2-8°C

Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use, and avoid prolonged exposure to room temperature conditions.

Precautions

- 1 For professional users only. Results should be interpreted by a medical professional.
2. This product contains <0.1% sodium azide (NaN_3) as a preservative. Ensure proper handling procedures are used with this reagent.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution according to local and federal regulations.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. For complete recommendations for handling biological specimens please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (1).

Preparation of Working Solution

The PolyDetector Peroxidase Block is a ready-to-use working solution and requires no further preparation.

Recommended Protocol

Apply the PolyDetector Peroxidase Block for 5 minutes before or after HIER (Heat Induced Epitope Retrieval), then rinse well with distilled water or wash buffer.

Abbreviated Immunohistochemical Protocol

Step	PolyDetector AP/HRP	PolyDetector Plus HRP
Peroxidase/AP Blocker	5 min.	5 min
Primary Antibody	30-60 min.	30-60 min.
1st Step Detection	30-45 min.	15 min.
2nd Step Detection	Not Applicable	15 min.
Substrate-Chromogen	5-10 min.	5-10 min.
Counterstain / Coverslip	Varies	Varies

Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum		Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller		Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
	Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Expiration Date Utiliser jusqu'à Verwendbar bis		Lot Number Code du lot Chargenbezeichnung		

Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD



5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

ImmunoDNA Washer

ImmunoDNA Washer 20X



PI 0150, Ver. 7 DCN: 4236

**Bio SB**
BIOSCIENCE FOR THE WORLD
www.biosb.com

Intended Use
For In Vitro Diagnostic Use.

Summary and Explanation
20X ImmunoDNA Washer is a concentrated wash buffer used for Immunohistochemistry and in situ Hybridization procedures. It can be used in autostainers, capillary action slides as well as manual staining procedures.

Presentation
20X ImmunoDNA Washer contains a buffer solution and Tween 20 detergent. It is provided in liquid form.

Catalog No.	Concentration	Volume/Qty
BSB 0149	20X	200 mL
BSB 0150	20X	1000 mL

Storage Store at 20-25°C

Stability
This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use. Adhere to all local laws when disposing of this product.

Precautions

- 1 For professional users only. Results should be interpreted by a medical professional.
2. Ensure proper handling procedures are used with this reagent.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution according to local and federal regulations.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. For complete recommendations for handling biological specimens please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (1).

Preparation of Working Solution
For working solution, dilute the concentrated 20X ImmunoDNA Washer with distilled or deionized water 1:20 (50 mL of the 20X ImmunoDNA Washer diluted with distilled or deionized water to make up 1 L of 1X working solution).

Recommended Protocol

Use the 1X working solution during any step that requires rinsing of slides.

Abbreviated Immunohistochemical Protocol

Step	ImmunoDetector AP/HRP	PolyDetector AP/HRP	PolyDetector Plus HRP
Peroxidase/AP Blocker	5 min.	5 min.	5 min.
Primary Antibody	30-60 min.	30-60 min.	30-60 min.
1st Step Detection	10 min.	30-45 min.	15 min.
2nd Step Detection	10 min.	Not Applicable	15 min.
Substrate-Chromogen	5-10 min.	5-10 min.	5-10 min.
Counterstain / Coverslip	Varies	Varies	Varies

Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum		Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller		Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
	Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis		Lot Number Code du lot Chargenbezeichnung		

Bio SB
 5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
 Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
 E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

TintoFast EpCAM BerEP4



Inset: IHC of EpCAM BerEP4 on a Frozen Acetone-Fixed Extramammary Paget's Disease Tissue

Intended Use

For Mohs In Vitro Diagnostic Use.

This antibody is intended for the fast immunohistochemical detection of EpCAM positive cells for Mohs surgery on frozen sections. Additionally, this antibody can also be used on FFPE specimens. Interpretation of results should be performed by a qualified medical professional.

Immunogen

MCF-7 human breast carcinoma cell line.

Summary and Explanation

Epithelial Cell Adhesion Molecule (EpCAM) or Epithelial Specific Antigen is a 40kD cell surface antigen that is broadly distributed in epithelial cells and displays a highly conserved expression in carcinomas. These glycoproteins are located on the cell membrane surface and in the cytoplasm of virtually all epithelial cells, with the exception of most squamous epithelia, hepatocytes, renal proximal tubular cells, gastric parietal cells and myoepithelial cells. However, focal positivity may be seen in the basal layer of squamous cell epithelium of endoderm (e.g., palatine tonsils) and mesoderm (e.g., uterine cervix).

EpCAM expression has been reported to be a possible marker of early malignancy, with expression being increased in tumor cells, and de novo expression being seen in dysplastic squamous epithelium. Epithelial specific antigen has been known to play an important role as a tumor-cell marker in lymph nodes from patients with esophageal carcinoma. EpCAM can be used to distinguish among Basal Cell, Basosquamous Carcinomas and Squamous Cell Carcinomas of the skin.

Antibody Type	Mouse Monoclonal	Clone	Ber-EP4
Isotype	IgG1/K	Reactivity	Paraffin, Frozen
Localization	Cytoplasmic	Control	BCC, EMPD
Species Reactivity		Human	

Precautions

1. For professional users only. Results should be interpreted by a qualified medical professional.
2. This product contains <0.1% sodium azide (NaN₃) as a preservative. Ensure proper handling procedures are used with this reagent.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution with copious amount of water.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. Follow safety precautions of the heating device used for epitope retrieval (TintoRetriever Pressure Cooker or similar).
8. For additional safety information refer to Safety Data Sheet for this product.
9. For complete recommendations for handling biological specimens, please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (see References in this document).

Presentation

Anti - EpCAM is a mouse monoclonal antibody derived from cell culture supernatant that is concentrated, dialyzed, filter sterilized and diluted in buffer pH 7.5, containing BSA and sodium azide as a preservative.

Catalog No.	Antibody Type	Dilution	Volume/Qty
BSB 3678	TintoFast Predilute	Ready-to-Use	3.0 mL
BSB 3679	TintoFast Predilute	Ready-to-Use	7.0 mL
BSB 3680	TintoFast Predilute	Ready-to-Use	15.0 mL

Storage

Store at 2-8°C

Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use and avoid prolonged exposure to room temperature conditions.

Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

Specimen Preparation

Mohs Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for the detection of EpCAM antigen in Mohs acetone-fixed frozen sections.

Paraffin sections: The antibody can be used on formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue sections. Ensure tissue undergoes appropriate fixation for best results. Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval (HIER) is recommended using Bio SB ImmunoDNA Retriever with Citrate (BSB 0020-BSB 0023), ImmunoDNA Retriever with EDTA (BSB 0030-BSB 0033). See reverse side for complete protocol. Tissue should remain hydrated via use of Bio SB Immuno/DNA Washer solutions (BSB 0029 & BSB 0042).

Mohs IHC Procedure

Specimen Preparation of Mohs Frozen Tissues

1. Embed the specimen in OCT inside a cryostat.
2. Cut sections at 4-5 µm and mount on a positively charged glass slide such as the Bio SB Hydrophilic Plus Slides (BSB 7028).
3. Air dry the slide at room temperature for 2 minutes and then incubate the slide at 60 °C for 3 minutes in an incubator or dry bath.
4. Fix in 100% acetone for 2 minutes at room temperature.
5. Rinse with distilled water and air dry the slides for another 2 minutes at room temperature.

Tissue Pretreatment Procedure for Mohs Frozen Tissues

1. Subject tissues to epitope retrieval using Bio SB ImmunoDNA Retriever with Citrate (BSB 0020-BSB 0023) or ImmunoDNA Retriever with EDTA (BSB 0030-BSB 0033). It is recommended that user uses a **5 minutes** heat-induced epitope retrieval (HIER) method using a pressure cooker (BSB TintoRetriever Pressure Cooker) at 110°C.

2. Any of three HIER methods may be used:

a. TintoRetriever Pressure Cooker or Equivalent

Place tissues/slides in a staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA, and place on trivet or staining dish support in the pressure cooker. Add 1-2 inches of distilled water to the pressure cooker and turn heat to high (110-121°C). Incubate for 5 minutes. Open and immediately transfer slides to room temperature. Cool off for 5-10 min

b. TintoRetriever PT Module or Water Bath Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA at 95°-99°C. Incubate for 10-15 minutes.

c. Conventional Steamer Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA in a steamer, cover and steam for 10-15 minutes.

IHC Detection Procedure

1. After HIER, transfer slides to ImmunoDNA washer and let stand for 1-2 minutes.
2. For manual staining, perform antibody incubation at ambient temperature. For automated staining methods, perform antibody incubation according to instrument manufacturer's instructions.
3. Wash slides with ImmunoDNA washer or DI water.
4. Continue IHC detection protocol. Wash slides between each step with ImmunoDNA washer solution.

Abbreviated Mohs Immunohistochemical Protocol

For best results we recommend using Mohs Frozen sections fixed with acetone for 2 min, then HIER with Citrate for 5 min at 110-121°C.

Step	Mohs PolyDetector HRP Green or DAB 5 min Protocol	Mohs PolyDetector HRP Green or DAB 10 min Protocol
Peroxidase/AP Blocker	0.5 min.	0.5 min.
Primary Antibody	2 min	4 min.
1st Step Detection	1 min	3 min.
Substrate-Chromogen	1 min	2 min.
Counterstain / Coverslip	0.5 min	0.5 min.

This protocol can also be used with FFPE Tissues retrieved with Citrate or EDTA.

Specimen Preparation for FFPE Tissues

1. Cut and mount 3-5-micron formalin-fixed paraffin-embedded tissues on positively charged slides such as Bio SB Hydrophilic Plus Slides (BSB 7028).
2. Air dry for 2 hours at 58°C.

Tissue Pretreatment Procedure for FFPE Tissues

1. Deparaffinize and rehydrate tissues.
2. Subject tissues to heat induced epitope retrieval (HIER) using a suitable retrieval solution such as ImmunoDNA Retriever with Citrate (BSB 0020-BSB 0023) or EDTA (BSB 0030-BSB 0033).

3. Any of three heating methods may be used:

a. TintoRetriever Pressure Cooker or Equivalent

Place tissues/slides in a staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA, and place on trivet in the pressure cooker. Add 1-2 inches of distilled water to the pressure cooker and turn heat to high. Incubate for 10-15 minutes. Open and immediately transfer slides to room temperature.

b. TintoRetriever PT Module or Water Bath Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA at 95°-99°C. Incubate for 20-30 minutes.

c. Conventional Steamer Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA in a steamer, cover and steam for 20-30 minutes.

4. After heat treatment, transfer slides in ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA to room temperature and let stand for 10 minutes.

5. For manual staining, perform antibody incubation at ambient temperature. For automated staining methods, perform antibody incubation according to instrument manufacturer's instructions.

6. Wash slides with ImmunoDNA washer or DI water.

7. Continue Mohs IHC staining protocol. Wash slides between each step with ImmunoDNA washer solution.

Mounting Protocols

Mount with aqueous mounting such as AquaMounter (BSB-0090- BSB 0093) or permanent mounting media such as XyGreen PermaMounter (BSB 0169-0174) or organic solvent-based resin such as PermaMounter (BSB 0094-0097).

References

1. Beer TW, et al. Histopathology. 2000;37:218-223
2. Carella R, et al. Am J Surg Pathol. 2001;25:43-50
3. Hosch S, et al. Cancer Res. 2000; 60:6836-6840
4. Latza U, et al. J Clin Pathol. 1990;43:213-219
5. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

EC REP	EMERGO EUROPE Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands		Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller	REF	Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum		Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis	LOT	Lot Number Code du lot Chargenbezeichnung

Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD

5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

TintoFast Cytokeratin AE1/AE3

TintoFast Cytokeratin AE1/AE3
Clone: AE1/AE3
Mouse Monoclonal



Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD
www.biosb.com

PI 3665, Ver. 3 DCN: 4236

Inset: IHC of Cytokeratin AE1/AE3 on a Frozen NBF 10%-fixed Basal Cell Carcinoma Tissue

Intended Use

For Mohs In Vitro Diagnostic Use.

This antibody is intended for the fast immunohistochemical detection of epithelial cells in the assessment of clear margins during intraoperative Mohs surgery on frozen sections. Additionally, this antibody can also be used to establish clear margins on FFPE specimens. Interpretation of results should be performed by a qualified medical professional.

Immunogen

Purified human epidermal keratin.

Summary and Explanation

Cytokeratins are intermediate-filament keratins found in the intracytoplasmic cytoskeleton of epithelial tissue. There are two types of cytokeratins: the low-weight, acidic Type I cytokeratins and the high-weight, basic or neutral Type II cytokeratins. Cytokeratins are usually found in pairs comprising a Type I cytokeratin and a Type II cytokeratin. Expression of these cytokeratins is frequently organ or tissue-specific.

Cytokeratin cocktail AE1/AE3 is well suited to distinguish Epithelial Carcinoma from Non-epithelial malignancies and is used to aid Epithelial Tumor classification. This antibody has been used to characterize the source of various neoplasms and to study the distribution of keratin-containing cells in epithelia during normal development and during the development of epithelial neoplasms. This antibody stains cytokeratins present in normal and abnormal human tissues. This antibody has shown high sensitivity and specificity in recognizing epithelial cells of neoplastic origin.

Antibody Type	Mouse Monoclonal	Clone	AE1/AE3
Isotype	IgG1	Reactivity	Paraffin, Frozen
Localization	Cytoplasmic	Control	Skin, SCC, BCC
Species Reactivity		Human, Dog, Cat, Mouse, Rat, Monkey, Rabbit, Chicken, Horse	

Precautions

1. For professional users only. Results should be interpreted by a qualified medical professional.
2. This product contains <0.1% sodium azide (NaN₃) as a preservative. Ensure proper handling procedures are used with this reagent.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution with copious amount of water.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. Follow safety precautions of the heating device used for epitope retrieval (TintoRetriever Pressure Cooker or similar).
8. For additional safety information refer to Safety Data Sheet for this product.
9. For complete recommendations for handling biological specimens, please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (see References in this document).

Presentation

Anti - Cytokeratin AE1/AE3 is a cocktail of mouse monoclonal antibodies derived from cell culture supernatant that is concentrated, dialyzed, filter sterilized and diluted in buffer pH 7.5, containing BSA and sodium azide as a preservative.

Catalog No.	Antibody Type	Dilution	Volume/Qty
BSB 3663	TintoFast Predilute	Ready-to-Use	3.0 mL
BSB 3664	TintoFast Predilute	Ready-to-Use	7.0 mL
BSB 3665	TintoFast Predilute	Ready-to-Use	15.0 mL

Storage Store at 2-8°C

Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use and avoid prolonged exposure to room temperature conditions.

Specimen Preparation

Mohs Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for the detection of epithelial cells in Mohs acetone-fixed frozen sections.

Paraffin sections: The antibody can be used on formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue sections. Ensure tissue undergoes appropriate fixation for best results. Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval (HIER) is recommended using Bio SB ImmunoDNA Retriever with Citrate (BSB 0020-BSB 0023), ImmunoDNA Retriever with EDTA (BSB 0030-BSB 0033) or ImmunoDNA Digestor (BSB 0108-0112). See reverse side for complete protocol. Tissue should remain hydrated via use of Bio SB Immuno/DNA Washer solutions (BSB 0029 & BSB 0042).

Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

Mohs IHC Procedure

Specimen Preparation of Mohs Frozen Tissues

1. Embed the specimen in OCT inside a cryostat.
2. Cut sections at 4-5 µm and mount on a positively charged glass slide such as the Bio SB Hydrophilic Plus Slides (BSB 7028).
3. Air dry the slide at room temperature for 2 minutes and then incubate the slide at 60 °C for 3 minutes in an incubator or dry bath.
4. Fix in 100% acetone or 10% NBF for 2 minutes at room temperature.
5. Rinse with distilled water and air dry the slides for another 2 minutes at room temperature.

Tissue Pretreatment Procedure for Mohs Frozen Tissues

1. Subject tissues to epitope retrieval using Bio SB ImmunoDNA Retriever with Citrate (BSB 0020-BSB 0023), ImmunoDNA Retriever with EDTA (BSB 0030-BSB 0033) or Mohs ImmunoDigester (BSB 0324- 0326). It is recommended that user choose either a 5 minutes heat-induced epitope retrieval (HIER) method using a pressure cooker (BSB TintoRetriever Pressure Cooker) at 110°C, or a 1-minute proteolytic induced epitope retrieval (PIER) method (for Cytokeratins using 10% NBF fixed tissues). Morphology is better with 10% NBF fixed tissues, especially when using proteolytic induced epitope retrieval method, however, antigen maybe easier to detect on the 100% acetone fixed tissue.

2. Any of three HIER methods may be used:

a. TintoRetriever Pressure Cooker or Equivalent

Place tissues/slides in a staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA, and place on trivet or staining dish support in the pressure cooker. Add 1-2 inches of distilled water to the pressure cooker and turn heat to high (110-121° C). Incubate for 5 minutes. Open and immediately transfer slides to room temperature. Cool off for 5 -10 min.

b. TintoRetriever PT Module or Water Bath Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA at 95°-99° C. Incubate for 10-15 minutes.

c. Conventional Steamer Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA in a steamer, cover and steam for 10-15 minutes.

3. For **PIER**, apply Mohs ImmunoDigester (BSB 0324- 0326) at room temperature for 1 min then wash.

IHC Detection Procedure

- After HIER or PIER, transfer slides to ImmunoDNA washer and let stand for 1-2 minutes.
- For manual staining, perform antibody incubation at ambient temperature. For automated staining methods, perform antibody incubation according to instrument manufacturer's instructions.
- Wash slides with ImmunoDNA washer or DI water.
- Continue IHC detection protocol. Wash slides between each step with ImmunoDNA washer solution.

Mounting Protocols

Mount with aqueous mounting such as AquaMounter (BSB-0090- BSB 0093) or permanent mounting media such as XyGreen PermaMounter (BSB 0169-0174) or organic solvent-based resin such as PermaMounter (BSB 0094-0097).

References

- Battifora H, Am J Surg Pathol. 1988;12:24
- Gown AM, et al. Am J Clin Pathol. 1985;84:413
- Knapp AC, et al. Cell. 1989;59:67-79
- Sunn TT, et al. J Invest Dermatol. 1983;81:109s-115s
- Eichner R, et al. J Cell Biol. 1984;98:1388-1396
- U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Abbreviated Mohs Immunohistochemical Protocol

For best results we recommend using Mohs Frozen sections fixed with NBF10% for 2 min. then PIER with Mohs ImmunoDigester (BSB 0324- 0326) at room temperature for 1 min.

Step	Mohs PolyDetector HRP Green or DAB 5 min Protocol	Mohs PolyDetector HRP Green or DAB 10 min Protocol
Peroxidase/AP Blocker	0.5 min.	0.5 min.
Primary Antibody	2 min	4 min.
1st Step Detection	1 min	3 min.
Substrate-Chromogen	1 min	2 min.
Counterstain / Coverslip	0.5 min	0.5 min.

This protocol can also be used with FFPE Tissues retrieved with Citrate or EDTA.

Specimen Preparation for FFPE Tissues

- Cut and mount 3-5-micron formalin-fixed paraffin-embedded tissues on positively charged slides such as Bio SB Hydrophilic Plus Slides (BSB 7028).
- Air dry for 2 hours at 58° C.

Tissue Pretreatment Procedure for FFPE Tissues

- Deparaffinize and rehydrate tissues.
- Subject tissues to heat induced epitope retrieval (HIER) using a suitable retrieval solution such as ImmunoDNA Retriever with Citrate (BSB 0020-BSB 0023) or EDTA (BSB 0030-BSB 0033).
- Any of three heating methods may be used:
 - TintoRetriever Pressure Cooker or Equivalent**
Place tissues/slides in a staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA, and place on trivet in the pressure cooker. Add 1-2 inches of distilled water to the pressure cooker and turn heat to high. Incubate for 10-15 minutes. Open and immediately transfer slides to room temperature.
 - TintoRetriever PT Module or Water Bath Method**
Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA at 95°-99° C. Incubate for 20-30 minutes.
 - Conventional Steamer Method**
Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA in a steamer, cover and steam for 20-30 minutes.
- After heat treatment, transfer slides in ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA to room temperature and let stand for 15 minutes.
- For manual staining, perform antibody incubation at ambient temperature. For automated staining methods, perform antibody incubation according to instrument manufacturer's instructions.
- Wash slides with ImmunoDNA washer or DI water.
- Continue Mohs IHC staining protocol. Wash slides between each step with ImmunoDNA washer solution.

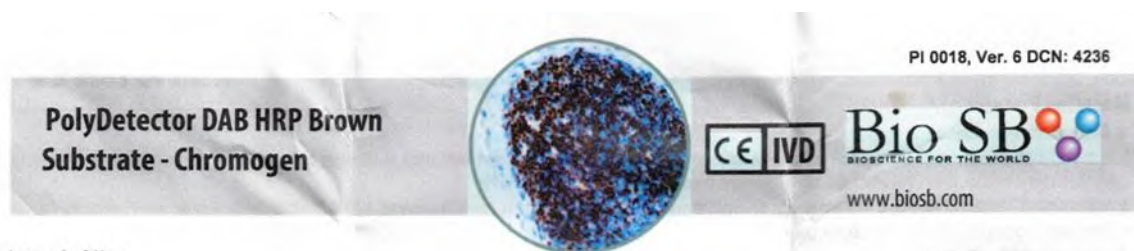
Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

EC REP	EMERGO EUROPE Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands		Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller	REF	Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum		Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis	LOT	Lot Number Code du lot Chargenbezeichnung

Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD

5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

PolyDetector DAB HRP Brown Chromogen



Intended Use

For In Vitro Diagnostic Use.

Summary and Explanation

The PolyDetector DAB HRP Brown Substrate-Chromogen is suitable for use in HRP Detection systems and allows for the demonstration of tissue antigens or nucleic acids in formalin-fixed paraffin-embedded tissues, frozen sections, cytosmeears, and cell preparations. The substrate chromogen is the final step in the detection protocol and enables the antibody antigen complex or nucleic acid-probe complex to be viewed under the light microscope. DAB acts as an electron donor in the presence of the enzyme horseradish peroxidase (HRP). DAB gets oxidized and produces a brown color at the site of the target antigen or nucleic acid.

DAB forms a permanent stain and provides a record of the results when coverslipped with an organic based resin, such as PermaMounter (BSB 0094-BSB 0097) or biodegradable alternative, such as XyGreen PermaMounter (BSB 0169-BSB 0174) or water-based mounting media such as AquaMounter (BSB 0090-BSB 0093).

Presentation

DAB (3,3'-diaminobenzidine) is a chromogen (color forming molecule) that develops into a brown precipitate insoluble in alcohol and organic solvents.

Catalog No.	Buffer - Substrate	Chromogen	Catalog No.	Buffer - Substrate	Chromogen	Catalog No.	Buffer - Substrate	Chromogen
BSB 0015	15 mL	1 mL	BSB 0018B	1000 mL	50 mL	BSB 0019	1000 mL	-
BSB 0016	50 mL	3 mL	BSB 0019A	-	100 mL	BSB 0019D	500 mL	-
BSB 0017	100 mL	6 mL	BSB 0019B	-	50 mL	BSB 0019E	200 mL	-
BSB 0018	200 mL	12 mL	BSB 0019C	-	12 mL	BSB 0019F	100 mL	-
BSB 0018A	500 mL	25 mL	BSB 0019G	-	6 mL			

Storage Store at 2-8°C

Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use, and avoid prolonged exposure to room temperature conditions.

Specimen Preparation

Paraffin sections: This product can be used on formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue sections. Ensure tissue undergoes appropriate fixation for best results. Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval (HIER) is recommended using Bio SB ImmunoDNA Retriever with Citrate (BSB 0020-BSB 0023), ImmunoDNA Retriever with EDTA (BSB 0030-BSB 0033). Tissue should remain hydrated using Bio SB Immuno/DNA Washer solutions (BSB 0029 & BSB 0042).

Frozen sections and cell preparations: This product can be used for labeling acetone-fixed frozen sections and acetone-fixed cell preparations.

Preparation of Working Solution

The DAB Chromogen is concentrated and needs to be diluted with the DAB substrate buffer solution (1 drop chromogen/1 ml buffer). Shake the DAB Chromogen before dispensing into the substrate-buffer solution. Prepare the working DAB Substrate Chromogen Solution right before use.

Working DAB Substrate Chromogen Required	1 mL	2 mL	3 mL
DAB Buffer	1 mL	2 mL	3 mL
DAB Chromogen	1 drop	2 drops	3 drops

Abbreviated Immunohistochemical Protocol

Step	ImmunoDetector HRP	PolyDetector HRP	PolyDetector Plus HRP
Peroxidase/AP Blocker	5 min.	5 min.	5 min
Primary Antibody	30-60 min.	30-60 min.	30-60 min.
1st Step Detection	10 min.	30-45 min.	15 min.
2nd Step Detection	10 min.	Not Applicable	15 min.
Substrate-Chromogen	5-10 min.	5-10 min.	5-10 min.
Counterstain / Coverslip	Varies	Varies	Varies

Mounting Protocol

a. Alcohol/Xylene Protocol

1. After the histological, immunohistochemical or *in situ* hybridization staining procedure is completed, rinse slides in deionized water.
2. Dip the slides in alcohol 30%, 70%, and 100% for 1-2 minutes, then dip for 1-2 minutes in 3 xylenes.
3. Add an organic Permanent Mounting medium such as XyGreen PermaMounter (BSB 0169-0174), PermaMounter (BSB 0094-0097) or similar permanent mounting media.
4. Apply cover slip and air dry before microscopic observation.

b. ChromoProtector Protocol

1. After the histological, immunohistochemical or *in situ* hybridization staining procedure is completed, rinse slides in deionized water. Do not incubate tissue or cell specimens in solvents such as alcohol, toluene, or xylene.
2. Using a coplin jar, or a staining dish with a rack, immerse slides with tissues in ChromoProtector or lay wet slides horizontally and apply sufficient drops of ChromoProtector (BSB 0151 – BSB 0156) to completely cover the tissue. Carefully spread ChromoProtector if needed, but avoid contacting the tissue.
3. Incubate slides for ten minutes at 60 °C to allow ChromoProtector to penetrate tissues.
4. Remove excess ChromoProtector by placing slides vertically over an absorbent material and let excess drain off into absorbent material. Do not rinse slides.
5. Allow slides to COMPLETELY air dry.

NOTE: The ChromoProtector will protect tissue from drying artifacts during the air-drying process.

6. When slides are completely dried, they can be mounted using most standard mounting methods such as aqueous or permanent.

7. Permanent Mounting

- Do not dehydrate slide through alcohol and/or xylene prior to mounting.
- Permanent Mounting medium such as XyGreenPermaMounter (Cat # BSB 0169-0174), PermaMounter (Cat# BSB 0094-0097) or similar permanent mounting media can be added directly to the slide until the tissue or cell specimen is covered.
- If the Permanent Mounting medium does not spread evenly on the dry slide, the slide can be dipped in toluene or xylene for 1 – 2 seconds to aid spreading of the mounting medium.
- Use a minimum amount of mounting medium so that slides dry rapidly.
- Apply coverslip and air dry before microscopic observation.

Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

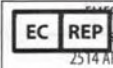
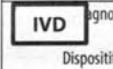
Precautions

1. For professional users only. Results should be interpreted by a qualified medical professional.
2. Ensure proper handling procedures are used with reagent. Minimize microbial contamination of reagents.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles, and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution according to local and federal regulations.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. For additional safety information refer to Safety Data Sheet for this product.
8. For complete recommendations for handling biological specimens please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (see References in this document).

References

1. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

 EC REP EUROPE Postbus 20 2514 AP The Hague The Netherlands	 Storage Temperature Limites de température Zuassiger Temperaturbereich	 Manufacturer Fabricant Hersteller	 REF Number reference du catalogue Bestellnummer
 IVD Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis	 LOT Number de du lot Chargenbezeichnung

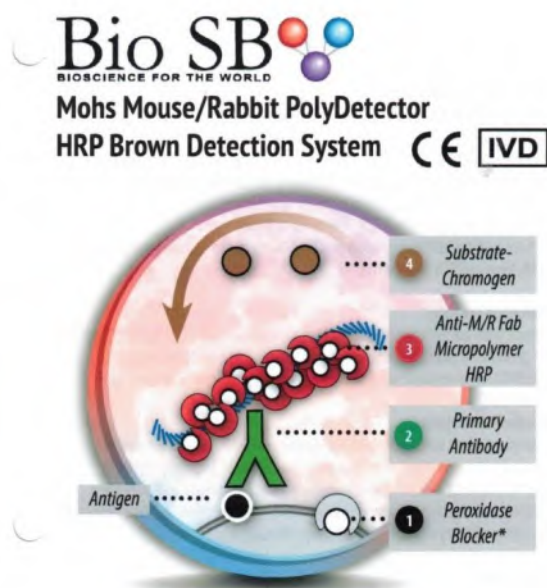
Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD



5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System

PI0309, Ver. 6



Intended Use
For In Vitro Diagnostic Use.

Summary and Explanation

The Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System is a 1-step Fab micropolymeric detection system that allows for the demonstration of antigens in cryostat sections, formalin-fixed paraffin-embedded tissue, and cell preparations. The Mohs PolyDetector kit has been developed using a micro-biopolymer conjugated to monomeric Fab immunoglobulin fractions targeting the Fc region of Mouse and Rabbit antibodies. Additionally, the micro-biopolymer is labeled with high quality HRP for maximum sensitivity. This ensures excellent cellular penetration which generates consistent, reproducible, sensitive and specific immuno detection for all types of nuclear, cytoplasmic and membranous antigens, in different types of frozen, FFPE tissues and cell preparations.

The increased sensitivity of the Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System allows for rapid IHC procedures without compromising signal quality. The Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System is suitable for use with mouse IgG and IgM and rabbit primary antibodies, both monoclonal and polyclonal. The Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System kits are optimized for use with Bio SB TintoFast primary antibodies; however, they are universal kits and therefore should work equally well with antibodies from different vendors, as long as they are properly optimized.

Presentation

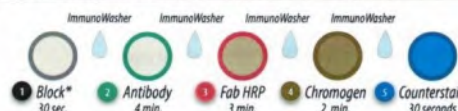
The Mohs Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Brown Detection System contains an Peroxidase Blocker* (can be omitted when using tissue with no endogenous peroxidase activity), an Anti-Mouse/Rabbit Horseradish Peroxidase micro-biopolymer solution, an HRP Brown Buffer Substrate, and an HRP Brown Chromogen solution. All components are buffered with stabilizers and a non-azide antimicrobial agent.

Catalog No.	Volume/Qty
BSB 0307S	5 mL Each
BSB 0307	15 mL Each
BSB 0308	50 mL Each
BSB 0309	100 mL Each

Storage Store at 2-8° C

Abbreviated Immunohistochemical Protocol

Step	Mohs PolyDetector HRP Brown
Peroxidase Blocker* (can be omitted when using tissue with no endogenous peroxidase activity)	0.5 min.
Primary Antibody	4 min.
Detection step	3 min.
Substrate-Chromogen	2 min.
Counterstain / Coverslip	0.5 min.



Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label.
Do not use after expiration date listed on the package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use. Adhere to all local laws when disposing of this product.

Precautions

- For professional users only. Results should be interpreted by a qualified medical professional.
- Ensure proper handling procedures are used with reagent. Minimize microbial contamination of reagents.
- Always wear personal protective equipment such as laboratory coats, goggles and gloves when handling reagents.
- Dispose of unused solution with copious amounts of water.
- Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
- Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
- Follow safety precautions of the heating device used for epitope retrieval (TintoRetriever Pressure Cooker or similar).
- For additional safety information refer to Safety Data Sheet for this product.
- For complete recommendations for handling biological specimens, please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (see References in this document).

Specimen Preparation

Frozen sections and cell preparations:

1. Embed the specimen in OCT inside a cryostat.
2. Cut sections at 4-5 µm and mount on a positively charged glass slide such as the Bio SB Hydrophilic Plus Slides (BSB 7028) or TintoDetector Cap Gap Plus (BSB 7006).
3. Air dry the slide at room temperature for 2 minutes and then incubate the slide at 60 °C for 3 minutes in an incubator or dry bath.
- Fix in 100% acetone and air dry or fix with 10% NBF for 2 minutes at room temperature then rinse with distilled water and air dry.
4. Frozen tissue pretreatment depends on the target of interest. Refer to product insert for primary antibody to determine appropriate pretreatment protocol.

FFPE Tissue Sections:

1. Cut and mount 3-5-micron formalin-fixed paraffin-embedded tissues on positive charged slides such as Bio SB Hydrophilic Plus Slides (BSB 7028) or TintoDetector Cap Gap Slides (BSB 7006).
2. Air dry for 1 hour at 58 °C.
3. Deparaffinize, dehydrate and rehydrate tissues. Additionally, TintoDeparaffinator Citrate or EDTA (BSB 0175 - BSB 0178) can be used to deparaffinize, retrieve and hydrate FFPE Tissues.
4. Subject tissues to heat induced epitope retrieval (HIER) using a suitable retrieval solution such as ImmunoDNA Retrieval with Citrate (BSB 0020-BSB 0023) or EDTA (BSB 0030-BSB 0033).
5. Any of three heating methods may be used:

a. TintoRetriever Pressure Cooker or Equivalent

Place tissues/slides in a staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA or TintoDeparaffinator Citrate or EDTA, and place on trivet in the pressure cooker. Add 1-2 inches of distilled water to the pressure cooker and turn heat to high. Incubate for 15 minutes. Release vapor, open and immediately transfer slides to room temperature.

b. TintoRetriever PT Module or Water Bath Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA, or TintoDeparaffinator Citrate or EDTA at 95°-99° C. Incubate for 30-60 minutes. Open and immediately transfer slides to room temperature.

c. Conventional Steamer Method

Place tissues/slides in a pre-warmed staining dish or coplin jar containing the ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA, or TintoDeparaffinator Citrate or EDTA in a steamer, cover and steam for 30-60 minutes.

6. After heat treatment, transfer slides in ImmunoDNA Retriever with Citrate or EDTA, or in TintoDeparaffinator Citrate or EDTA to room temperature and let stand for 15-20 minutes.
7. For manual IHC, perform antibody incubation at ambient temperature. For automated IHC methods, perform antibody incubation according to the instrument manufacturer's instructions.
8. Wash slides with ImmunoDNA washer or DI water.
9. Continue IHC protocol.

IHC Detection Procedure

1. After HIER or PIER, transfer slides to ImmunoDNA washer and let stand for 1-2 minutes.
2. For manual IHC, perform antibody incubation at ambient temperature. For automated IHC methods, perform antibody incubation according to instrument manufacturer's instructions.
3. Wash slides with ImmunoDNA washer or DI water.
4. Continue Mohs IHC detection protocol. Wash slides between each step with ImmunoDNA washer solution.

Mounting Protocol

Mount with aqueous mounting such as AquaMounter (BSB-0090- BSB 0093) or permanent mounting media such as XyGreen PermaMounter (BSB 0169-0174) or organic solvent-based resin such as PermaMounter (BSB 0094-0097).

Product Limitations

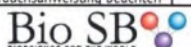
Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

EC REP	EMERGO EUROPE Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands	 Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Manufacturer Fabricant Hersteller	REF	Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis	LOT	Lot Number Code du lot Chargenbezeichnung


 5385 Hollister Avenue, Bldg. 8, Ste. 108 Santa Barbara, CA 93111, USA
 Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
 E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

Hematoxylin Counterstainer



Intended Use

For In Vitro Diagnostic Use.

Summary and Explanation

Hematoxylin Counterstainer provides a nuclear blue counterstain for Immunocytochemical, Immunohistochemical and CISH procedures. It is an acidic stain that will adhere to any proteins with basic characteristics and yields a contrasting color from that of the chromogen in an immunohistochemical reaction. Hematoxylin Counterstainer also enables for more distinct viewing of the morphological characteristics of cells or tissue sections.

Presentation

Hematoxylin Counterstainer is provided in liquid form ready-to-use. It contains ethylene glycol, acetic acid and aluminum sulfate.

Catalog No.	Concentration	Volume/Qty
BSB 0024	Ready-to-use	15 mL
BSB 0025	Ready-to-use	50 mL
BSB 0026	Ready-to-use	100 mL
BSB 0027	Ready-to-use	200 mL
BSB 0028	Ready-to-use	1000 mL

Storage Store at 20-25°C

Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use. Adhere to all local laws when disposing of this product.

Precautions

1. For professional users only. Results should be interpreted by a medical professional.
2. Ensure proper handling procedures are used with this reagent.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution according to local and federal regulations.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. For complete recommendations for handling biological specimens please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (1).

Preparation of Working Solution

Hematoxylin Counterstainer is a ready-to-use working solution and requires no further preparation.

Recommended Protocol

1. Immerse cells or tissue sections for 30 seconds in Hematoxylin Counterstainer when staining with antibodies or nucleic acid probes showing a nuclear pattern of immunoreactivity, otherwise immerse for 45 to 60 seconds.
2. After staining with Hematoxylin Counterstainer, specimens need to be washed in distilled water and then blued in either washing buffer, tap water or a commercial bluing agent.
3. Dehydrate, clear, and mount.

Abbreviated Immunohistochemical Protocol

Step	ImmunoDetector AP/HRP	PolyDetector AP/HRP	PolyDetector Plus HRP
Peroxidase/AP Blocker	5 min.	5 min.	5 min.
Primary Antibody	30-60 min.	30-60 min.	30-60 min.
1st Step Detection	10 min.	30-45 min.	15 min.
2nd Step Detection	10 min.	Not Applicable	15 min.
Substrate-Chromogen	5-10 min.	5-10 min.	5-10 min.
Counterstain / Coverslip	Varies	Varies	Varies

Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

 In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Manufacturer Fabricant Hersteller	 Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
	 Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis	 Lot Number Code du lot Chargenbezeichnung

Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD

5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com

Aqua Mounter

Aqua Mounter



PI 0093, Ver. 7

IVD

Bio SB
BIOSCIENCE FOR THE WORLD

www.biosb.com

Intended Use
For In Vitro Diagnostic Use.

Summary and Explanation
Aqua Mounter is an aqueous-based mounting media designed for the preservation of Immunocytochemical and Immunohistochemical stainings.

Aqua Mounter is ideally suited for mounting cells or tissue sections immunostained with AEC, New Fuchsin, Fast Red, Alk Magenta, Alk Red and any Horseradish Peroxidase or Alkaline Phosphatase substrate-chromogens that are soluble in organic solvents.

Presentation
Aqua Mounter is provided in liquid form ready-to-use. It contains a buffer solution, reagents and a sodium azide anti-microbial

Catalog No.	Concentration	Volume
BSB 0090	Ready-to-use	15 mL
BSB 0091	Ready-to-use	50 mL
BSB 0092	Ready-to-use	100 mL
BSB 0093	Ready-to-use	500 mL

Storage Store at 20-25°C

Stability

This product is stable up to the expiration date on the product label. Do not use after expiration date listed on package label. Temperature fluctuations should be avoided. Store appropriately when not in use. Adhere to all local laws when disposing of this product.

Precautions

1. For professional users only. Results should be interpreted by a medical professional.
2. This product contains <0.1% sodium azide (NaN_3) as a preservative. Ensure proper handling procedures are used with this reagent.
3. Always wear personal protective equipment such as laboratory coat, goggles and gloves when handling reagents.
4. Dispose of unused solution according to local and federal regulations.
5. Do not ingest reagent. If reagent is ingested, seek medical advice immediately.
6. Avoid contact with eyes. If contact occurs, flush with large quantities of water.
7. For complete recommendations for handling biological specimens please refer to the CDC document, "Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories" (1).

Preparation of Working Solution

Aqua Mounter is a ready-to-use working solution and requires no further preparation.

Recommended Protocol

1. After counterstaining and rinsing slides with buffer, apply 1-3 drops of Aqua Mounter to slide and coverslip.
2. Allow slide to dry at room temperature.
3. Observe under microscope.

Abbreviated Immunohistochemical Protocol

Step	ImmunoDetector AP/HRP	PolyDetector AP/HRP	PolyDetector Plus HRP
Peroxidase/AP Blocker	5 min.	5 min.	5 min
Primary Antibody	30-60 min.	30-60 min.	30-60 min.
1st Step Detection	10 min.	30-45 min.	15 min.
2nd Step Detection	10 min.	Not Applicable	15 min.
Substrate-Chromogen	5-10 min.	5-10 min.	5-10 min.
Counterstain / Coverslip	Varies	Varies	Varies

Product Limitations

Due to inherent variability present in immunohistochemical procedures (including fixation time of tissues, dilution factor of antibody, retrieval method utilized and incubation time), optimal performance should be established through the use of positive and negative controls. Results should be interpreted by a qualified medical professional.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. Supplement / Vol. 61, January 6, 2012.

Symbol Key / Légende des symboles/Erläuterung der Symbole

	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum		Storage Temperature Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller		Catalog Number Référence du catalogue Bestellnummer
	Read Instructions for Use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Expiration Date Utiliser jusque Verwendbar bis		Lot Number Code du lot Chargenbezeichnung		

Bio SB
BIO SCIENCE FOR THE WORLD

5385 Hollister Avenue, Building 8, Santa Barbara, CA 93111, USA
Tel. (805) 692-2768 | Tel. (800) 561-1145 | Fax. (805) 692-2769
E-mail: sales@biosb.com | Website: www.biosb.com