

Anatomia Patologikoko Immunohistokimika Kalitateari buruzko eskuliburua

**Manuel Vaquero dr.
Anatomia Patologikoko Zerbitzua**

2007

AURKIBIDEA

Sarrera	5
Ehunak finkatzea	7
Berreskuratze antigenikoa	9
Emaiza immunohistokimikoaren kuantifikazioa	10
Immunohistokimika egitea prestakin zitologikoetan	11
Antigorputz berrien ebaluazioa	12
Antigorputz motak	14
Eskura dauden antigorputzak	14
Antigorputzen panelak	14
• Primario ezezaguna	14
• Tumore diferentziatu gabeak	17
• EMAren erabilgarritasuna	17
• Bularra	17
• Nerbio-sistema: neurodeg. eta tumoreak	18
• Birika/mesotelioa	20
• Larruazala	21
• Gibela	21
• Giltzurruna-urotelioa/prostata/barrabilak	21
• Obulutegia/trofoblastoa	24
• Endokrinoak-neuroendokrinoak	25
• Atal bigunak	25
• Algoritmoa kolon eta ondesteko kartzinoman	26
• Hematopoietikoak	27
Gomendatutako kanpoko kontrolak	28

Azterketa immunohistokimikoak egiteko
eskaera-orria30
Eranskina:
Antigorputzen datu-basearen adibidea31

XIX. mendean hasi ziren hematoxilina-eosinarekin ehunen tindaketa egiten, jarraian mikroskopioan hobeto ikusi ahal izateko. XX. mendeko lehen herenean histoentzimologia jarri zen abian, finkatu gabeko ehunak erabiliz. Baina gaur egun haren arrasto batzuk baino ez dira gelditzen, hala nola DPNasa eta ATPasarekin egindako azterketak muskuluetako gaixotasunetan. Lehenbiziko immunohistokimika antigorputz fluoreszenteekin egin zen ehun freskoen gainean, gaur egun larruazaleko eta giltzurrunetako hainbat gaixotasunetan erabiltzen direnak bezalakoak. Metodo immunoentzimatikoek (peroxidasa, aviditabiotina) —kromogenoaren seinalea handitzeko aukera ematen zutenak— formolean finkatutako eta parafinan sartutako ehunen erabilera bultzatu zuten. Gaur egun, polimero sintetikoak erabiltzen dira seinalea handitzeko (Envision, Powervision).

Gaixotasunen (berezi gaixotasun neoplasikoen) diagnostiko anatomopatologikoetan funtsezko teknika da immunohistokimika. Erabilgarritasun osoa eskuratzeko, behar-beharrezkoa da ehunak finkatzea, ohiko jarraibideak kontuan hartzea, teknikak eta emaitzak irakurtzea eta balorazioa egitea, Kalitate Kontrolen irizpideen arabera, bai barnekoak (zerbitzuarenak berarenak) bai kanpokoak (gure kasuan Anatomia Patologikoaren Espainiako Elkarteak araututakoak).

Immunohistokimika-teknikak erabiliz emaitzarik hoberenak lortzen laguntzeko asmoz, Eskuliburu honetan hainbat atal jasotzen dira: batetik, kalitate-maila estandar batzuk lortzeko, eta, bestetik, horien etengabeko hobekuntza lortzeko.

Donostia Ospitaleko Anatomia Patologikoko Zerbitzuan badago antigorputz-kopuru nahikoa eta baliabide tekniko egokiak dituen Immunohistokimikako laborategia, diag-

nostikorik onenak lortzeko modua ematen diguna. Hala ere, behar bezala antolatu eta kudeatu behar dira, zerbitzuko edozein patologok haien eraginkortasun eta erreproduzigarritasun egokia lortu ahal izateko. Horregatik, behar-beharrezkoa da antigorputz guztiak eta haien ezau-garriak jasotzen dituen datu-base bat antolatzea, gida tekniko batekin eta aztertu beharreko patologien eta horien algoritmo diagnostikoen arabera antigorputz-talde panelak buruzko argibideekin; beharrezkoak dira, halaber, ebaki bereko edo ehunen edo ad hoc tumoreen barneko kontrolak egitea, balorazio kuantitatibo objektiboak egin ahal izateko, behatzaileen arteko nahiz behatzaileen barneko aldaketak minimoak izan daitezzen.

Urrats bakoitzaren estandarizazioa funtsezkoa da, ehuna jasotzen denetik lortutako emaitzaren azken balorazioa egin arte, immunohistokimika erabat sinesgarria izateko, eta, era berean, egindako gastua beharrianetara ondoen egokitzen dena izateko. Helburu horiek guztiak betetzeko jaio da Eskuliburu hau.

Eskerrik asko zerbitzuko patologoei eta, lan hau egiteko eman didaten laguntza teknikoarengatik eta laguntasunarengatik, immunohistokimikako laborategiko teknikoei (Elena, Juana eta Puriri), zerbitzuko gainbegiratzaileari (Korori) eta Lindari, bere laguntza informatikoagatik. Haien laguntzarik gabe, lana gogorragoa zatekeen eta emaitza eskurazina.

Ehunak finkatzea

Immunohistokimika biopsiatik edo autopsiatik lortutako ehunetan egin daiteke (normalean formolean finkatuta eta parafinan sartuta), baita zitologiako materialetan ere.

Materiala finkatzeko fasea funtsezkoa da immunohistokimikan. Finkatze oker batek emaitza fidagarriak izatea eragozten du.

Immunohistokimikarako erabiltzen den finkatzailea 7,4ko pH-an tanponatutako % 4ko formaldehidoa da (formalina). Finkatze-epe ideala ez da 24 ordutik beheragokoa izango, ezta 48tik gorakoa ere. Estandar hauetatik kanpo, teknikaren kalitatea nabarmen jaisten da. Komeni da, beraz, biopsia egiteko eskaera-orrian formolean zein ordutan sartu zen jartzea. Inguruko tenperaturan baino altuagoetan egiten diren finkatzeek emaitza okerragoak ematen dituztela frogatu da. Pieza handiak hozkailuan sartzea da onena (4 °C-tara) gau osoan utzi behar badira, neurtu aurretik. Autopsietatik lortutako materialak normalean emaitza kaxkarrak ematen ditu, ehunek jasaten dituzten postmortem ondorioen erruz. Bimentinarekin egindako immunohistokimikak finkatzean zehar gertatzen diren narriadurak erakusten ditu. Asteburuan azertu behar diren piezei ostiralean bertan aplikatuko zaie prozesamendua, formolean denbora gehiegi ez pasatzeko; baina ezin bada, hobe da prozesamendua 70eko alkoholarekin hastea.

Ehuna formolean 24 ordu baino gutxiago egon denean, finkatze hibridoa gertatzen da: formolean finkatzen dira kanpoko aldetik, eta erdiko alde sakonak prozesamenduan zehar erabiltzen diren alkoholek finkatzen dituzte. Horrek sentiberago egiten ditu berreskuratze antigenikoen meto-dotara eta positibo faltsu gehiago lortzen dira.

Zitologiak, berriz, formolean finkatu behar ez direnez, beste prozesamendu batekin lantzen dira. Dagokion atalean azalduko da.

Deskaltzifikazio-metodo bat behar izanez gero, arinenak aukeratuko dira, ahal izanez gero, EDTA. Azidoak erabili badira, behar-beharrezkoa da orduetako garbiketa egitea ur korrontearekin. Deskaltzifikazioa zenbat eta luzeagoa izan, orduan eta luzeagoa izango da garbiketa ere.

Berreskuratze antigenikorako metodoak

Formalinaz egindako finkatzeetan metilo zubi gurutzatuak sortzen dira proteinen artean, eta alboko kaltzio-konposatuak osatzen dira. Konposatu horiek eragina dute, halaber, zona antigenikoetan, eta ezabatu egin behar dira immunohistokimikan emaitza onak eskuratzeko.

Berreskuratze antigenikoa egiteko erabiltzen den metodoa bero bidezko inkubazioz egiten da, 100 °C-tara, zitrato- edo EDTA-bufferretan. Entzima proteolitikoak gutxiago erabiltzen dira, berorik gabe; hondo gehiago uzten baitute eta, gainera, ehuna errazago askatzen baita.

- Protease-induced epitope retrieval (PIER)

Immunofluoreszentziarako deskribatu zuen Huang-ek 1976an. Antigorputzen kopuru zehatz baterako soilik da erabilgarria parafinan, eta, gainera, oso zaila da erreplikatzea. Emaitza estandarizatuenak proteasak ematen ditu. Aldagai garrantzitsuenak digestio-denbora eta entzima-kontzentrazioa dira.

- Heat-induced epitope retrieval (HIER)

1991n Shi mikrouhin-labea erabiltzen hasi zen, 8-12 minutu bitartean, laminak 0,001 m-ko zitrato-bufferrean sartuz, pH 6ra. Baina arazorik handiena hau zen, hots, beroarekin epitopo batzuk kalte itzulezinak jasaten dituztela, eta, gainera, ehuna ondo finkatuta ez badago, errazago gertatzen dela hori. Ebakitako ehunak ez askatzeko, lamina itsaskor bereziak erabiltzen dira.

Emaitza immunohistokimikoaren kuantifikazioa (J Histochem 2005; 28:89)

Oro har, ondoko jarraibidea gauzatuko da, nahiz eta kasu zehatz batzuetan ehunekoak eta haien esanahia aldatu:

- Negatiboa (-): erabateko negatibotasuna edo "itu" zelulen % 50 baino gutxiago, baina kontrolean baino intentsitate gutxiagorekin.
- Positibotasun txikia (+/-): "itu" zelulen % 50 baino gehiago, baina kontrolean baino intentsitate gutxiagorekin.
- Positiboa (+): "itu" zelulen % 50 baino gehiago, kontrolaren pareko intentsitatearekin edo intentsitate gehiagorekin.

Negatiboaren eta positibotasun txikiaren edo positiboaren arteko intentsitate-muga lehendik dagoen barneko kontrol batekin edo kanpoko beste *ad hoc* batekin konparatuz ematen da.

Immunohistokimika egitea prestakin zitologikoetan

Onera da beti parafinan prozesatzeko bloke bat aurrez ikustea. Bi aukera daude, lamina zitologiko berarekin immunohistokimika egitea batetik, edo, bestela, eskuratu nahi diren zonak askatu eta beste porta batzuetara eramatea. Azken aukera hori astunagoa da, baina emaitza hobekak eskaintzen ditu, eta porta bat baino gehiago lor daitezke hedadura zitologiko bakar batetik. Metodo hori nahiko berria da, eta honela egiten da:

Mount-Quick hazkuntza-medioa erabiltzea garrantzitsua da (Newcomer supply. Middleton WI) (Cancer Cytopathol 2005;105:158/ J Histoch 2002;25:251)

- Bota hazkuntza-medioa laminaren gainean eta gogortu 50-60 °C-tan estufa bidez, hainbat ordutan.
- Markatu aztertu beharreko zonak, errotuladore ezabaezin batekin.
- Berotu ur-bainuan (45 °C-tan) 15-20 minutuz, biguntzeko.
- Altxatu portatik hazkuntza-medioa bisturi batekin, eta moztu xerratan.
- Eraman porta itsaskor berezira, eta mantendu minutu batez presiopean iragazki-paper hezearekin.
- Utzi gau osoan 60 °C-tan.
- Kendu MontQuick-a, xilol-etik hirutan pasatuz.
- Berridratatu (Ez da beharrezkoa tindugabetzea, HIER erabiliko bada).

Antigorputz berrien ebaluazioa

(J. Histoch 2001; 24:275)

- 1. Antigorputz primario berri bat hautatzea:** izan daiteke eskaera berriak daudelako, edo lehendik dagoen beste bat ordezteko.
 - Urtean egingo diren testak aurrez ikusi behar dira, eta azterketa bakoitzaren kostua zein izango den.
 - Jakin egin behar da: diluzioa zein den (aurretik diluitu gabeak nahiago izan arren), berreskuratze antigenikoaren metodoa eta antigorputzaren sentikortasuna eta espezifikotasuna. Adibidez, p53rentzat DO7 edo pAb 1801; HER2/neu baino, hobe untxiaren poliklonala, baina + faltsuak ematen ditu. Poliklonalek oro har afinitate handiagoa izaten dute, eta 1/1000tik gorako diluzioetan erabil daitezke, baina "hondo gehiago" emateko joera dute, eta blokeo osagarriak egitera behartzen gaitu horrek(adib.: M Ig motako LeuM1 klonarekin M Ig motako antigorputz sekundario bat erabili behar da).

2. Immunorreaktibotasunaren optimizazioa

Faktore garrantzitsuenak hauek dira:

- Antigorputz primarioaren diluzioa.
- Primarioaren inkubazio-iraupena.
- Antigorputz sekundarioaren mota eta kontzentrazioa.
- Erabilitako berreskuratze antigenikoaren teknika.
- Inkubazio-tenperatura.
- Detekzio eta anplifikazio-sistema.

Praktikan, hiru aldagai baino ez dira kontuan hartzen:

- Antigorputz primarioaren diluzioa.
- Primarioaren inkubazio-denbora (denbora luzatzen bada, antigorputz primarioa gehiago diluitu daiteke).
- Berreskuratze antigenikoaren teknika (EDTA alkalinoa zitratoa baino hobe izan ohi da). Salbuespenak: LMP-1 eta CD21; horietan entzimak nahiago izango baitira.

Antigorputz berriak balidatzeko lan-orria hau da (gutxi gorabeherako taula):

Diluzioa*	Berresk. antg/ Denbora **	Antig. denb.	Inkubazio- sist.	Emaitzak ***
1/10 1/20 1/40 1/80	10 mM zitrato pH 6 / 20 min.	32 minutu	Envision	0- negatiboa 1- positibo ahula itu zelula ba- tzueta
1/10 ... 1/80	1mM EDTA pH 8 / 20 min.	32 minutu	Envision	2- positibo txikia itu zelula asko- tan 3-positibo neu- rritsua itu zelula gehienetan
1/10 ... 1/80	Proteasa 8 minutu	32 minutu	Envision	4-positibo sen- doa itu zelula gehienetan

* Jarraitu diluzioak, antigorputz bakoitzaren zehaztapenen ara-bera

** Berotu (eltzean, mikrouhin-labean edo autoklabean) 100 °C-tan, 15-20 minutuz, eta beste hainbeste hozteko. Askotan pH 9 hobe da.

*** Balorazioa doitzeko bakarrik. Ez diagnostikoen emaitzetarako.

Ituaren positibotasunaz gain, hondoa ere baloratu behar da. Hondoaren tindaketa horiek hainbat arrazoiengatik gertatzen dira. Batzuetan, antigorputza ez dagoelako erabat purifikatuta eta zehaztu gabeko immunoglobulinak dituelako gertatzen da. Bestetan, antigorputz primarioaren eta/edo sekundarioaren titulazioa akastuna delako (hori konpontzeko, gutxitu kontzentrazioa eta handitu denborak). Tindaketa zitoplasmatikoetan kontuan hartu behar dira positibo faltsuak, adibidez biotina endogenoak sortutakoak (antigorputz primarioaren ondoren, neutralizatu avidinarekin), eta peroxidasek (ur oxigenatuarekin neutralizatzen da) eta fosfatasa endogenoek sortutakoak (levamisolekin blokeatzen da).

Finkatze-arazoak detektatzeko, baliagarria izaten da bimentina-kontrol bat sartzea (Dako), baina harekin inolako berreskuratze antigenikorik egin gabe.

Antigorputz motak

Antigorputzak poli edo monoklonalak izan daitezke. Monoklonalak espezifikoagoak dira, eta Kohler-en hibridoma-metodoaren bidez lortzen dira. Metodo horretan, immunizatutako sagu baten zelula esplenikoak murino baten mieloma ez-jariatzailearen zelula-leinu batekin fusionatzen dira. Untxia sagua baino errazago immunizatzen denez, gaur egun untxien antigorputz monoklonalak erabiltzen ari dira, untxiak mieloma izan ez arren. Hori dela-eta, untxisagu heterohibridomak sortu behar izaten dira. Untxien antigorputzak sentikorragoak dira, eta espezifikotasuna mantendu ohi dute. (Am J Clin Pathol 2005;124:295).

Eskura dauden antigorputzak

Datu-basean ikus daitekeenez (eskuliburuaren bukaeran erantsita ematen da), immunohistokimikako teknikaren kalitatearen identifikazio, erabilera eta kudeaketa behar bezala egiteko, datu guztiak bildu dira.

Hortik eta eskaera-orritik aterako dira: erabilitako antigorputzen hileko estatistikak, bakoitzaren positibotasunaren ehunekoa eta arazo teknikoak.

Antigorputzen panelak (Dabs. Diagnostic Immunohistochemistry 2002; www.immunohipermart.net; www.immunoquery.com/login.cfm; www.cap.org)

Primario ezezagunaren metastasia (J Histoch 1999; 22:209)

- Zitokeratinak (CK) Pm-aren eta puntu isoelektrikoaren (Moll) arabera sailkatzen dira. In vivo bikoteka agertu ohi dira, basikoa bata eta azidoa bestea (CK8/CK18; CK5/CK14). Praktikan, erabilgarrienak hauek dira:
 - PanCK AE1-AE3.

- 34beta E12 (Pm altua): epitelio konplexuetan detektatzen da, hala nola duktuan, trantsizioan eta ezkatatsuetan (CK 1, 5, 10 eta 14); gutxi diferentzia-tutako kartzinoma ezkatatsuetan eta mesotelioan.
 - CK5/6: positiboa zelula basaletan, gutxi diferentzia-tutako kartzinoma ezkatatsuetan eta mesotelioan.
 - CK7: hainbat epitelio sinpletan detektatzen da: biriketakoan, umetoki-lepokoan, bularretakoan, behazun-hodietan, giltzurrunetako hodi kolektoreetan, maskurikoan eta mesotelioan.
 - CK19 oso erabilgarria da pankreako, urdaileko, koloneko, behazunbideetako, gibealeko eta bularretako kartzinometan. Tiroideko kartzinoma papilarra positiboa izan ohi da, folikularren % 50ekin alderatuta.
 - CK20: urdaileko zelula fobeolarretan detektatu ohi da eta maskuriko "umbrela" zeluletan. Merkel zelulen kartzinometan oso positiboa da. Positiboa koloneko kartzinometan.
- CK7 eta CK20 elkarrekin erabiltzeak abantaila handiak eskaintzen ditu, balizko primario bati buruzko orientazioan:

CK7/CK20 +	CK7/CK20 negatiboak	CK7+/ CK 20 negatiboa	CK7 negatiboa/ CK20 +
Pankrea Maskuria Obulutegiko muzinosoa Merkel kartzinoma	Biriketako ezkatatsua Neuroendokrinoak Hepatokartzinoma Giltzurruna Prostata	Timoma Biriketako no oat cell Mesotelioma Bularra Endometrioa Obulutegiko serosoa	Kolon eta ondestekoa

- CEA: oro har positiboa biriketako, gibealeko eta kolon eta ondesteko kartzinometan. Batzuetan positiboa bularretako, trantsizioan eta umetoki-lepoko kartzinometan. Orokorrean negatiboak mesotelioman, giltzurrunetako, endometrioko eta obulutegiko kartzinometan.
- p 16- GPBekin lotutako kartzinometan eta displasietan gainadieraziak.

Kartzinomen jatorria identifikatzeko beste konbinazio erabilgarri batzuk hauek dira:

	34BE12	CAM 5.2	AE1/AE3	CK7	CK 20	TTF-1
Merkel k	N	+	+	N	+	N
Oat cell	N	+	+	-/+	N	+
Birik. adk	-/+	+	+	+	N	+/-
Bularra	-/+	+	+	+	N	N
Seminoma	N	N	N	N	N	N
Endometrioa	-/+	+	+	+	N	N
Maskuria	-/+	+	+	+	+	N
Parotida	-/+	+	+	+	N	N
Neuroend.	N	+	+	+	N	N
Pankrea	-/+	+	+	+/-	-/+	N
Biliarra	-/+	+	+	+/-	+/-	N
Urdailekoa	N	+	+	+/-	+/-	N
Kolon eta ondestekoa	N	+	+	N	+	N
Prostata	N	+	+	-/+	N	N
Giltzurruna	N	+	+	N	N	N
Germinala	N	+	+	+	N	N
Gibeleko kartz.	N	+	N	N	N	N
Obulutegiko muz.	N	+	+	+	+	N
Ob. ez-muz.	N	+	+	+	N	N
Tiroidea	-/+	+	+	-/+	+/-	+
Adrenala	N	N	N	N	N	N
Timokoa	-/+	+	+		N	N
Umetoki-lepo barrukoa.	N	+	+	+	N	N

Antigorputz batzuk organo-espezifikoagoak dira:

- PSA, tiroglobulina, TTF-1, A motako proteina surfaktantea.
- Estrogenoen eta/edo progesteronaren hartzaileak positiboak dira normalean bular, endometrio, umeto-

ki-lepo, obulutegi eta tiroidean, tumore neuroendokrinoetan eta izerdi-guruinetakoetan. Negatiboak dira beti, hepatokartzinometan, kolon eta ondesteko kartzinometan eta no oat cell biriketakoetan.

- Tumore diferentziatu gabeak

	CAM 5.2	EMA	S-100	ALC	Fosf Al Plac
Kartzinoma	+	+	-/+	N	-/+
Melanoma	N	N	+	N	N
Linfoma	N	N	N	+	N
Ez-seminoma	+	N	N	N	+
Seminoma	R-N	N	N	N	+

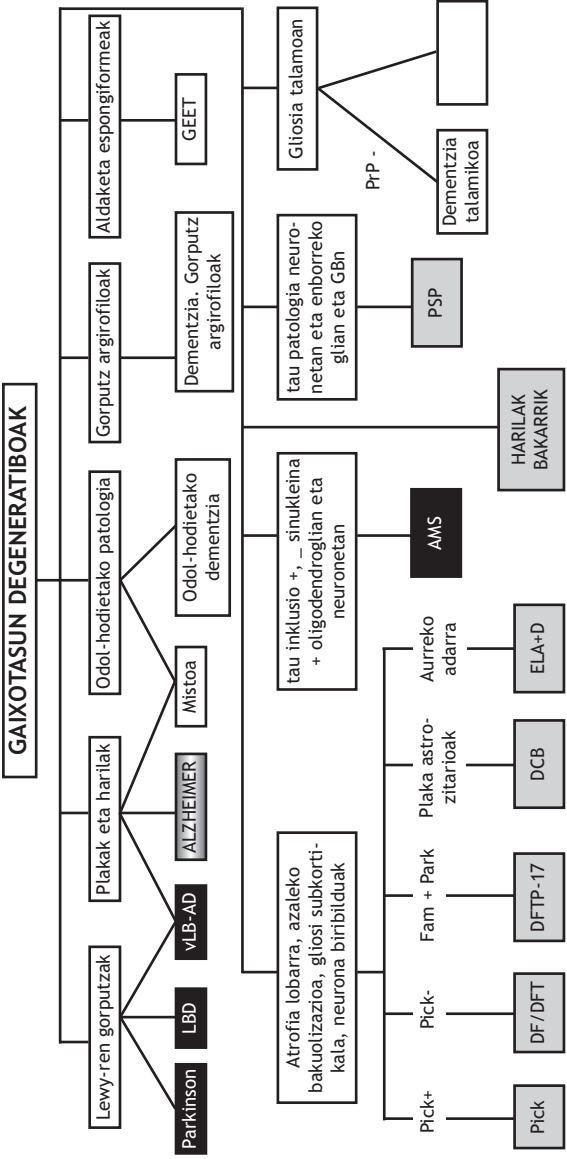
- **EMA**ren erreaktibotasuna, kartzinometan eta tumore ez epitelialetan.

Normalean positiboa	Orokorrean positiboa	Positibotasun fokalagoa
Bahazunbideak Kartzinoma sarkomatoideak Umetoki-lepo barrukoa Endometrioa Bularra Meningioma Mesotelioma Pankrea Larruazala eta anexuak Prostatako hodiak Birika Listua Tiroidea Urotelioa	Tumore germinalak, koriokartzinoma izan ezik	Perineuroma Neurofibrosarkomak Sarkoma sinobiala Plasmatisakoak Eritroblastoak Hodgkin zelula Linf-Hist ALK linfoma Leiomiosarkoma Hist. fibroso gaiztoa

- **Bularra**

- Hodietako hiperplasiaren eta hiperplasia atipiko-Ca in situ-ren arteko diagnostiko berezitua egiteko, baliagarriak dira 34bE12 eta CK 5/6 zitokeratinak.
- Gerta daitekeen estromaren inbasioa baloratzeko, p63 eta kalponina erabiltzen dira.

• Gaixotasun neurodegeneratiboak



Sailkapenean garrantzitsua da kontuan hartzea: datu klinikoak, lesioen banaketa anatomikoa, aldaketa morfologiko desberdinak eta positibotasuna, patologiaren arabera, antigorputz hauetarako:

- β -Amiloidea
- Proteina Glial Fibrilar azidoa
- Sinukleina
- Tau
- Ubikuitina

• **Nerbio-sistema zentraleko tumoreak**

Oso garrantzitsua: ebakuntzan zehar ziur egon behar da hartzen den materiala lesioaren adierazgarri dela. Kontuz!: Estereotaxiarekin lortutako biopsietan, lagin guztia "zapaldura" teknikarako erabiltzen bada inprontarako erabili beharrean, ez da materialik geldituko parafinarekin erabiltzeko. Kontuan izan behar da, halaber, glioblastoma batzuek positibotasuna eman dezaketela zitokeratinentzat, beraz, CAM 5.2 egokiagotzat joko da. Normalean, diagnostikorako eta sailkapenerako baliagarria izan ohi da Ki-67 eta p53 erabiltzea.

- Zelula argiekin

	PGFAP	EMA	Synapt	Kp-1
Oligodendroglioma	+	-	-	-
Xantoastrozitoma	+	-	-	-
Ependimoma	+	-	-	-
T disenbrioplastikoa	+	-	+	-
Neurozitoma	+	-	+	-
Meningioma	-	+	-	-
Hemangioblastoma	-	-	-	-
Giltzurrunetako kartzinoma	-	+	-	-
Desmielinizazioa	+	-	-	+
Infartua	+	-	-	+

- Zelula epitelioideekin:

	GFAP	CAM 5.2	EMA	S-100	Kromog	Sinapt
Oligodendroglioma	+	-	-	+	-	-
Ependimoma	+	-	-	+	-	-
Plexu-papiloma	-	+	-	+	-	+
Kordoma	-	+	+	+	-	-
Kraniofaringioma	-	+	+	-	-	-
Kartzinoma	-	+	+	-	-	-
Hipofisiko adenoma	-	+	+	-	+	+
Paranglioma	-	-	-	-	+	+
Meningioma	-	-	+	-	-	-
Melanoma	-	-	-	+	-	-
Hemangioblastoma	-	-	-	-	-	-

- Tumoreak zelula txiki/anaplasikoekin

	Biment	GFAP	Sinapt	S100	Desmi	CK	EMA	CD20
Ependimoblast	+/-	-/+	-	-	-	-	-	-
Medulob/PNET	-	-/+	+/-	-/+	-	-	-	-
Errabdomios	-	-	-	-	+/-	-	-	-
T teratoidea	+	+/-	-	-	-	+/-	-/+	-
Hemangioperiz.	+	-	-	-	-	-	-	-
Linfoma	-	-	-	-	-	-	-	+
Zel. txikiko kartzinoma	-	-	-	-	-	+	+	+/-

• **Arnasakoa**

- Biriketako kartzinomak: epidermoidea vs oat cell

	Pankeratinak/ CAM 5.2	A Kromogranina	TTF-1
Kar. epidermoide	+ hedatsua	-	-
Oat cell	+/- puntu formakoa	+	+

- Mesotelioma epiteliala vs kartzinoma

	Kalretinina	Tronbo-modulina	DO 4	CK 5/6	CEA	CD15	BerEP 4
Mesotelioma	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-
Kartzinoma	-	-	-	-/+	+/-	+/-	+

• **Larruazala**

- Paget-en gaixotasuna vs kartzinomak / melanoma

	CK 7	Pan CK	CK 20	CEA	S-100
Bularretako Paget	+	+	-	+	- / +
Bulbako Paget	- / +	+/-	- / +	+/-	- / +
Ondesteko kartz.	-	+	+	+	-
Kartz. uroteliala	+	+	-	- / +	-
Melanoma	-	-	-	-	+
Bowen	-		-	-	-

• **Gibela**

- Gibeleko kartzinoma primarioak

	CK AE1-AE3	CEA	Hepatozito 1	Alfa FP
Hepatokartzinoma	- / +	- / +	+	+ / -
Kolangiokartzinoma	+ / -	+ / -	- / +	- / +

• **Urogenitala**

- Giltzurrunetako tumoreak: profil immunohistokimikoak

- Adenoma metanefrikoa: WT1 eta CD 57 positiboak; CK 7 eta EMA negatiboak
- Angiomiolipoma: HMB 45 eta aktina positiboak; CK negatiboak
- Kartzinomak, Xp11.2/TFE3 translokazioarekin: TFE 3 proteina nuklearra positiboa
- Zelula argien kartzinoma

Positiboak	Negatiboak
CK 7 EMA Vimentina CD10 Fosfatasa alkalinoa	CK, Pm altukoa CEA S-100 Inhibina Beste batzuk: Muzina, Oil red-O, Hale koloide-burdina

- Giltzurrunetako kartzinoma papilarra

Positiboak	Negatiboak
CK AE1-AE3 CK 7 Vimentina Muzina	CK, Pm altukoa Ulex europeus lectina

- Kartzinoma kromofoboa

Positiboak	Negatiboak
CK AE1-AE3 CK 7 CK, Pm altukoa (batzuetan negatiboa) E-Cadherina EMA Hale koloide-burdina Alzian urdina	CD10 Bimentina

- Hodi kolektoreetako kartzinoma

Positiboak	Negatiboak
EMA CK 7 CK, Pm altukoa Bimentina CEA (fokala) Muzina	CD15

- Kartzinoma uroteliala

Positiboak	Negatiboak
CEA CK, Pm altukoa p63 CK 7 CK 20 (*) _ - katenina (kolonekoan ez bezala)	Bimentina CDX2

(*) CK20, in situ kartzinomaren (*) eta hiperplasia urotelialen arteko diagnostiko bereizlea egiteko.

- Giltzurrunetako neoplasien koadro sinoptikoa (Clin Lab Med 2005;25:247)

	Zelula argiak	Papilarra	Kromo- foboa	Onkozito- ma	Hodi kolekt.
CD10	%81-100	%63-100	+/- %26	+/- %33	-----
RCC marker	%75-85	%75-96	+/- %45	-----	
Bimentina	+	+/-	-----	+/-	
EMA	+		+	%75	+
CK 7	----	+ (1. mota)	%73-100 *	%19-100 **	+/-
CK 20	----	+/- (2. mota)	----	+/- (%50- 80)	-----
CK 15	%75	%100	+/- (%25)	%63	
CD 117	+/- (%15)	+/- (%28)	%57-100 ***	%70-100 ***	-----
Errazemasa	-/+ (%25)	%100	-----	-/+ (15%)	
CK < Pm	+	+		+	
CK >Pm	----	-/+	----	----	+
E- Cadherina	%5	%0 (1. mota) %38 (2. mota)	%95-100	%100 ****	

(*) bizia, mintz indargarriarekin; (**) fokala eta ahula; (***) mintza; (****) zitoplasmikoa. Kromofoboak ez bezala: patroai hau eraztunean, CK 7-CK 19 eta AE1-AE3rekin.

- Prostata (Histopathology 2005; 47:1)

- AMARCR (P504S untxiaren antigorp. monoklonala) erabilgarria da gradu altuko PINean eta prostatako kartzinoman. Positibo eman dezake adenosian eta adenoma nefrogenikoan.
- PSA- poliklonal bat eta gradu altuko kartzinoma bat erabili behar da kontrol gisa.
- Prostatako kartzinoma bat beste urotelial batetik bereizteko baliagarriak izan ohi dira: PSA prostatakoa dela ziurtatzeko, eta pisu molekular handiko zitokeratinak (34 betaE12), p63 eta CK7, urotelioa dela ziurtatzeko (positiboa izan daiteke Gleason altuetan); alderantziz gertatzen da CK 20ren kasuan.

Basalak markatzeko, eraginkortasun berekoak dira CK 5/6 eta p63 (azken hau elektrokoagulazioari erresistenteagoa da).

- Barrabiletakako tumoreak

Antigorputz hauek baliagarriak izan ohi dira:

- Fosf. Alkalino Plazentarioa (mintza)- Seminoma, neoplasia germinal intratubularra, gonadoblastoma, kartz. enbrionarioak, TSE (altzogune endodermikoko tumorea).
- HCG- Sintziotrofoblastoko zelulak.
- Kareneko laktogenoa- tarteko trofoblastoa.
- Inhibina- T estroma- kordoi sexualak, tarteko trofoblastoa.
- EMA- positibo ematen badu, baztertu kartzinoma metastasikoa.

	PLAP	CD 117	Pan CK	CD 30	alfaFeto-proteina	Inhibina	Bimentina
Seminoma	+ (*)	+	-/+	-	-	-	-
Kartz. enbrionarioa	+		+	+	-/+	-	-
TSE	+/-		+	-	+/-	-	-
Leydig-en zel. tumorea**	-		-/+	-	-	+	+
Sertoli-ren zel. tumorea	-		+/-	-	-	+	+

(*) negatiboa espermatozitikoa; (**) S-100 eta Melan A positiboak izan daitezke

- Obulutegietako tumoreak

	Azaleko epitelioa	Tekoma	Pikortsua	Sertoli Leydig	Wolffnax. tumorea	Disgerminom	TSE	Kartz. enbr.	Korio
EMA	+	-	-		-	-	-	-	-
Inhibina	-	+	+	+/-	+	-	-	-	-
MelanA	-	-	-/+	+	-	-	-	-	-
CK	+	-	-		-	-	+	+	+
AFP	-	-	-		-	-	+	-/+	-
HCG	-/+	-	-		-	-	-	-	+
CD30	-	-	-		-	-	-	+	-

- Obulutegietako kartzinoma muzinosa vs koloneko kartzinoma

	Kolon eta ondestekoa	Obulutegietakoa
CK 7	-	+
CK 20	+	-
CEA	+	-
Bimentina	-	-/+

- Lesio trofoblastikoak eta simulatzaileak

	Karenean kokatua	Kareneko nodulua	Tumore trofoblastikoa	Kartz. ezkatatsua
CK	+	+	+	+
Ki-67	-	-/+	+/-	+
HLP	+	-	+/-	-
PLAP	+	+	¿	-

- Tumore endokrinoak/neuroendokrinoak (J Histoch 1999; 22:239): A kromogranina (batzuetan huts egiten du hindgut kartzinoideetan eta prolaktinometan), sinaptofisina, Leu 7, CD57 (NCAM), alfa inhibina (esteroideak produzitzen dituzten zelula gonadalak eta azal adrenalak).
- Atal bigunetako tumoreak (J Histoch 1999; 22:219)
 - CD31 (PECAM-1): endotelioa, plaketak, zelula ama hematopoietikoak.
 - CD34: dermatofibrosarkoma protuberans, tumore fibroso bakartia, hemangioperizitoma, GIST, endotelioa, guraso hematopoietikoak, fibroblastoak eta lipoma fusozelularra.
 - XIII faktorea: histiozitoma fibrosoa.
 - S-100: melanoma, zelula argien sarkoma, zelula biribilen lipoma.
 - HMB-45: melanomak, PEComak.
 - HHF.35, alfa aktina muskularra: zelula glomikoak, miofibroblastoak, mioepitelioa eta muskulu leuna.
 - Kaldesmona: muskulu leuna eta mioepitelioa, baina ez miofibroblastoetan ezta errabdoan ere.

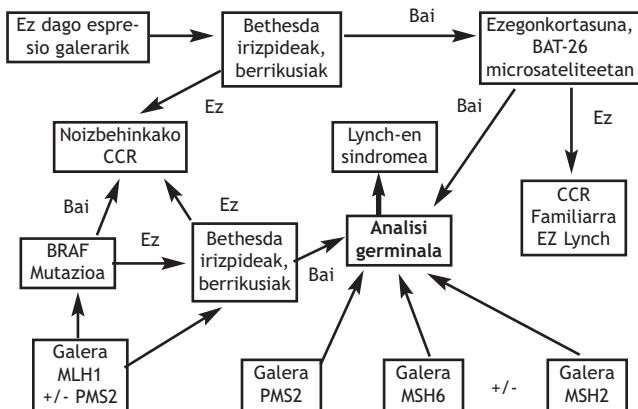
- Kalponina: muskulu leuna, miofibroblastoak, mioepitelioa eta, batzuetan, sarkoma sinobialean.
- EMA: perineuromak, meningioma, giltzurrunetako kartzinoma eta sarkoma sinobiala (azken honetan baliteke S100 eta CD99k modu fokalean positibo ematea).
- Myo D1: nukleoan, muskulu ildaskatuaren espezifikoa izateko.
- β -katenina fibromatosian (negatiboa orbainetan).

Erabilgarriak dira tumoreka:

- Sarkoma epitelioiden: EMA, vimentina, CD34 (% 50), aktina (% 33). CK7 negatiboa da
- Sarkoma albeolarrean: aktinak eta desminak positibo ematen dute kasuen % 50ean. AE3 proteinak +
- Osteosarkoman: osteokaltzina
- Ewing/PNET-ean: CD99; modu fokalean, CK eta neurofilamentuak
- Neuroblastometan: NSE eta sinaptofisina positiboak, CD99, berriz, negatiboa
- Zelula txiki biribilen tumore desmoplasikoan: positibotasuna CK, bimentina, EMA eta desminarentzat. NES +/-
- Zelula txiki, urdin, biribilen tumoreak (J Histoch 1999;22:289)

	ALC	Bim	Des	Akt	MyoD	CK	CD 99	NF	AKr	Si-napt	TdT	Inhib	S 100
Leuk/linf	+	+	-	-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-
Errabdo	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Neurobl	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Ewing	-	+	-	-	-	-/+	+/-	-/+	+	-/+	-	-	-
S sinobiala	-	+	-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
DSRCT	-	+	+	+	-	-	-	-/+	-/+	+	-	-	-
Kond ms	-	+	-	-	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-
Pikortsua	-	-	-/+	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	+	-/+
Melanoma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Kartzinoma	+	-/+	-	-	-	+	-	-	-/+	-	-	-	-/+

Immunohistokimikako emaitzen algoritmoa, MLH1, MSH2, MSH6 eta PMS2-rekin, kolon eta ondesteko kartzinoman (Rev Esp Patol 2006;39:201-8). Aldatua



• Hematopoietikoak eta kidekoak:

- Leukozitoen antígeno arrunta (LAA: CD45RB/CD45): hezur-muinean sortutako zelulak, linfzitoak eta monozitoak barne. Negatiboak dira kasuen % 50ean: ALK linfoma eta linfoblastikoak. Negatiboak izan ohi dira: Hodgkin zel. eta plasmatisak.
- ALK: lokalizazio bat baino gehiago.
- CD1a: Langerhans zel., timozito kortikalak (heldu gabeak) eta, batzuetan, Rosai-Dorfman.
- CD3: poliklonala. Monoklonala bada, erabili epsilon (7S1).
- CD5: timozitoak, T linfzitoak, kartzinoma timikoak, LLK eta mantuko linfoma.
- CD10: LLA, zentro germinala, linfoma folikularra, Burkitt-en linfoma.
- CD15 (LeuM1): granulozitoak, makrofago batzuk eta Reed-Sternberg-en zel. (Golgi eta mintza).
- CD20: B linfzitoak.
- CD23: LLC, zel. dendritikoak.
- CD30: linfzito-aktibazioaren markatzailea, ALK linfoma, kartzinoma enbrionarioa eta Reed-Sternberg-en zel. (Golgi eta mintza).

- CD38: linfo aktibatuak eta plasmatisak.
 - CD43: T linfoak, granulozitoak (LMA), monolitoak, megakariozitoak, mastozitoak eta B linfomen % 30.
 - CD45RO (UCHL1): T linfoak, monozitoak eta granulozitoak (LMA).
 - CD63: plasmatisak (sare endoplasmikoa markatzen du).
 - CD68 (KP-1): positibotasun zitoplasmikoa dute monozitoek, SER, osteoklastoek, mieloide aitzindariak eta B linfo batzuek.
 - CD79a: B linfositak.
 - CD99: timozito kortikalak eta timomak, PNET/Ewing eta LLA.
 - CD123: aitzindari dendritiko hematodermikoa.
 - CD138: plasmatisak.
 - Mum 1: plasmatisak.
 - Pax-5: B lerroko diferentziazioa.
 - Bcl-2: gradu baxuko limfomak eta T linfositak.
 - Bcl-6: jatorria gunerminala.
 - D1 ziklina: mantuko limfoma.
 - S100 (nuklearra eta zitoplasmikoa): Langerhans zel., zel. interdigitanteak, Rosai-Dorfman, leuzemia mieloidea, melanomak eta Schwann-en zel.
 - TdT: leuzemia linfoide akutak.
 - Triptasa: mastozitoak.
 - MIB-1 (Ki-67): ugalketaren markatzailea.
 - ZAP70- pronostiko okerragoaren adierazlea LLCn, eta, seguruenik, baita mantuko limfoman ere.
- Gomendatutako kanpoko kontrolak (www.ihcworld.com)

Antigorputzak	Kontrola	Patroiak
Aktina muskulu-espezifikoak	Kolona, barea	Zitoplasma
AE1/AE3	Kolona, larruazala, pankrea	Zitoplasma
AFP	Fetu-gibela	Zitoplasma
ALK	Linfoma anaplasikoa	Aldagai nuklearra/zitopl.
Beta amiloidea	Alzheimerra burmuinean	Zitoplasma
Beta Katenina	Behazunbideak	Nukleoak
BerEP4	Bularra, kolona	Zitoplasma
CD (hainbat), bcl-2/bcl-6	Amigdala	Mintza
CD15	Hodgkin	Mintza / Golgi
CD30	Hodgkin, pankrea	Mintza / Golgi

Antigorputzak	Kontrola	Patroiak
CD99	Timoa	Mintza
CD117	Larruazala, burmuina, birk- ka, barea	Mintza / zitoplasma
CEA (monoklonala)	Kolona	Zitoplasma
CK AE1-AE3	Kolona, larruazala, pankrea	Zitoplasma
CK7	Bularra, birika	Zitoplasma
CK20	Kolona, pankrea	Zitoplasma
Kaldesmona	Muskulu leuna	Nukleoa / zitoplasma
Kalretinina	Mesotelioa, timoa, barrabi- la, zerebeloa	Zitoplasma pikorduna
COX2	Kolona, giltzurruna	Zitoplasma
A Kromogranina	Pankrea, adrenal, obolute- gia	Mintza
Desmina	Kolona, barea	Mintza
E-Cadherina	Bularra	Nuklearra
EGF R	Karena	Zitoplasma
EMA	Amigdala, giltzurruna	Zitoplasma
Estrogeno-h.	Bularra, umetokia	Zitoplasma
Kareneko fosfat. alkalinoa	Karena	Zitoplasma
Hepar 1	Amigdala, giltzurruna	Zitoplasma
hCG	Bularra, umetokia	Zitoplasma
HMB-45	Karena	Zitoplasma
Immunoglobulinak	Gibel arrunta	Zitoplasma
Inhibina	Karena	Zitoplasma
Ki-67 (MIB1)	Melanoma	Nuklearra
Kareneko laktogenoa	Amigdala	
Melan A.	Obulutegia	Zitoplasma
Mieloperoxidasa	Larruazala, timoa, amigdala	Zitoplasma pikorduna
Pax-5	Karena, amigdala	Nukleoa
p53	Melanoma	Nuklearra
p63	Hezur-muina	Nuklearra
PDGF R	Hodgkin-en linfoma nodula- rra	Mintza
Progesterona-h.	Kartz. seroso, Bularreko	Nuklearra
Proteina glial fibrilarra	kartz.	zitoplasma
PSA	Bularra	Zitoplasma
Errazemasa	Bularra	Nukleoa + zitoplasma
S-100	Bularra, umetokia	Zitoplasma
Sinaptofisina	Zerebeloa	Zitoplasma
Tau	Prostata	Nukleoa
TdT	Prostata	Zitoplasma
Tiroglobulina	Larruazala	Nuklearra
TTF-1	Burmuina, adrenal	Zitoplasma
Triptasa	Alzheimerra	Zitoplasma
Bimentina	Timoa	Nuklearra
WT-1	Tiroidea	
	Tiroidea	
	Hezur-muina	
	Koloneko kartz.	
	Giltzurruna	

Azterketa immunohistokimikoak egiteko eskaera

Lagin-zk.

Urgentea ☐

dk. Eskaera-data:

Entrega-data:

Teknikariarentzako oharrak:

Balorazio teknikoak (1etik 10era)

- APTE:
- Patologoa:

Ikusitako arazo teknikoak:

-
- | | | |
|---------------------|--------------------|-------------------------------|
| • Aktina musk. esp. | • CD79a | • Lambda |
| • ALK proteina | • CD99 | • LMP-1 |
| • Alfa1-antitrip | • CD117 | • Melan A. |
| • Alfa-fetoprot | • CD123 | • Mieloperoxidasa |
| • Alfa sinukleina | • CEA | • Myo D1 |
| • AA amiloidea | • c-erb-2 | • MUM-1 |
| • Anti HH3 | • A Kromogranina | • MLH1-MSH2-MHS6-PMS2 |
| • Beta amiloidea | • Zitok AE1-AE3 | • Neurofilamentuak |
| • Bcl-1 | • Zitok 5/6 | • p16 |
| • Bcl-2 | • Zitokeratina 7 | • p53 |
| • Bcl-6 | • Zitokeratina 19 | • p63 |
| • Bcl-10 | • Zitokeratina 20 | • Pax-5 |
| • BerEP 4 | • Zitok 34 B E12 | • Perforina |
| • Kaldesmona | • Desmina | • Progesterona-hartz. |
| • Kalmodulina | • DO 4 D2-40 | • Prot. glial fibrilarra |
| • CD1a | • EBER | • PSA |
| • CD3 | • e-cadherina | • Alfa errazemasa |
| • CD4 | • Enolasa NE | • S-100 |
| • CD5 | • Estrogeno-hartz. | • Sinaptofisina |
| • CD7 | • XIIIa faktorea | • A proteinaren surfaktantea. |
| • CD8 | • Fosfatasa azidoa | • Tau |
| • CD10 | • Fosfat alkalinoa | • TdT |
| • CD15 | • B Grantzima | • TIA-1 |
| • CD20 | • HCG-beta | • Tiroglobulina |
| • CD23 | • 1 Hepatozitoa | • Triptasa |
| • CD30 | • HMB-45 | • Tronbomodulina |
| • CD31 | • Alfa inhibina | • TTF-1 |
| • CD34 | • A Immunoglob. | • Bimentina |
| • CD43 | • D Immunoglob. | • ZAP-70 |
| • CD45RA (ALC) | • G Immunoglob. | |
| • CD45RO/UCHL | • M Immunoglob. | |
| • CD56 | • Kappa | |
| • CD57 | • Ki-67 | |
| • CD68 | • Karen. laktogen. | |

ERANSKINA

Antigorputzak

ANTIGORPUTZA OHARRAK	KLONA	LABORATEGIA	ERREFERENTZIA	DILUZIOA	ANTIGENO-BER.	BISTARATZE-S.	KONTROLA
E M A	E29	DAKO	M 613	1/2500	ELTZA	ENVISION	
E CADHERINA	AM 390SH	MENARINI	AM 390	AURRETIK DILUITUA	ELTZA	ENVISION	
DESMINA	D33	DAKO	M 760	1/100	ELTZA	ENVISION	
DENDRITIKOAK	CNA.42	DAKO	M 7157	1/100	ELTZA	ENVISION	
DBA 44 izoztua	DBA 44	DAKO	M 880	1/50	ELTZA	ENVISION	
KROMOGRANINA	LK2H10	MENARINI	MU 126-UC	1/100	ELTZA	ENVISION	
IV KOLAGENA	CIV 22	DAKO	M 785	1/50	ELTZA	ENVISION	
CK 7	OV-TL12-30	DAKO	M 7018	1/500	ELTZA	ENVISION	
ZITOKERATINA CAM 5.2	MNF116	DAKO	M0821	1/300	ELTZA	ENVISION	
KALRETININA	POLI	ZIMED	08-1211	1/10	ELTZA	ENVISION	
KALDESMONA	H-CD	DAKO	M 3557	1/50	ELTZA	ENVISION	
KALTZITONINA izoztua	CA-3-F5	DAKO	M 3509	1/250	ELTZA	ENVISION	
LAMBDA KATEAK izoztua	POLI	DAKO	A 193	1/30000	ELTZA	ENVISION	
K KAPPA KATEAK	POLI	DAKO	A 192	1/30000	ELTZA	ENVISION	
C K 34-12		DAKO	M 0630	1/600	ELTZA	ENVISION	
C erb B2	POLI	DAKO	A 0485	1/1500	ELTZA	ENVISION	
C E A	TF3H8-1	BIOGENEX	MU-187-UC	1/350	ELTZA	ENVISION	
C D 99		MENARINI	MIC2	AURRETIK DILUITUA	ELTZA	ENVISION	
C D 8	4B11	NOVOCASTRA	NCLCD84B11	1/20	ELTZA	ENVISION	
C D 79 a	JCB117	DAKO	M 7050	1/200	ELTZA	ENVISION	
C D 7	CD7-272	NOVOCASTRA	NDLCD7272	1/50	ELTZA	ENVISION	
C D 68	PG-M1	DAKO	M 0876	1/500	ELTZA	ENVISION	
C D 68	KP1	DAKO	M 814	1/500	ELTZA	ENVISION	

C D 57	NK1	NOVOCASTRA	NCL-NK1	1/50	ELTZA	ENVISION
C D 5	4C7	NOVOCASTRA	CD5 4C7	1/5	ELTZA	ENVISION
C D 43	MT1	BIOPENEX	MU 155 UC	1/150	ELTZA	ENVISION
C D 4	IF6	NOVOCASTRA	NCLCD41F6	1/20	ELTZA	ENVISION
C D 38 C 1	VS38 c	DAKO	M 7077	1/25	ELTZA	ENVISION
C D 34	Qbend/10	NOVOCASTRA	NCL-END	1/500	ELTZA	ENVISION
C D 31 izoztua	JC/70 ^a	DAKO	M 823	1/50	ELTZA	ENVISION
C D 3	POL1	DAKO	M -7254	1/200	ELTZA	ENVISION
C D 23	1B 12	NOVOCASTRA	NCLCD23 1B1	1/40	ELTZA	ENVISION
C D 21 izoztua	IF8	DAKO	M 784	1/20	10'40 ENTZIMA	ENVISION
C D 20	L 26	DAKO	M 755	1/3500	ELTZA	ENVISION
C D 15	MMA	BDICKINSON	347420	1/20	ELTZA	ENVISION
C D 138	ML 15	DAKO	M 7228	1/100	ELTZA	ENVISION
C D 117	CKIT	DAKO	A 4502	1/150	ELTZA	ENVISION
C D 10	56C6	NOVOCASTRA	NCLCD10270	1/15	ELTZA	ENVISION
C D 1 izoztua	010	M-D	0781 B	AURRETIK DILUITUA	ELTZA	ENVISION
B C L 6	PG-B6p	DAKO	M 7211	1/10	ELTZA pH 8	ENVISION
B C L 2	124	DAKO	M 887	1/350	ELTZA	ENVISION
ANTIGENO	Ikus EP4	DAKO	N 1531	1/25	M.300 10' PEPS	ENVISION
EPITELIALA						
AMELOIDEA	MC 1	NOVOCASTRA	NCL-AAC	1/400	ELTZA	ENVISION
AKTINA	HHF 35	DAKO	M635	1/200	ELTZA	ENVISION
ACTH	02 A31	DAKO	N 1531	1/15	ELTZA	ENVISION
A L K	ALK1	DAKO	M 7195	1/25	ELTZA	ENVISION
A L C	PD7/26	DAKO	M 833	1/1000	ELTZA	ENVISION
A F P		DAKO	A 0008	1/1500	ELTZA	ENVISION