

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Estrogen Receptor

**Product Code: NCL-L-ER-6F11/2**

Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)  
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#) [AR](#)

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per l'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

## Instrucciones de uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

## Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

## Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

## Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

## Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

## Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

## Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

## Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione. Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo. Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét. Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Estrogen Receptor

**Product Code: NCL-L-ER-6F11/2**

## Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-ER-6F11/2 is intended for the qualitative identification by light microscopy of Estrogen Receptor molecules in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

## Principle of Procedure

Immunohistochemical (IHC) staining techniques allow for the visualization of antigens via the sequential application of a specific antibody to the antigen (primary antibody), a secondary antibody to the primary antibody and an enzyme complex with a chromogenic substrate with interposed washing steps. The enzymatic activation of the chromogen results in a visible reaction product at the antigen site. The specimen may then be counterstained and coverslipped. Results are interpreted using a light microscope and aid in the differential diagnosis of pathophysiological processes, which may or may not be associated with a particular antigen.

## Clone

6F11

## Immunogen

Prokaryotic recombinant protein corresponding to the full length alpha form of the human estrogen receptor molecule.

## Specificity

Human estrogen receptor.

## Reagent Composition

NCL-L-ER-6F11/2 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

## Ig Class

IgG1

## Total Protein Concentration

Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

## Antibody Concentration

Greater than or equal to 67.5 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for lot specific Ig concentration.

## Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

**Heat Induced Epitope Retrieval (HIER):** Please follow the instructions for use in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Suggested dilution:** 1:50 for 30 minutes at 25 °C. This is provided as a guide and users should determine their own optimal working dilutions.

**Visualization:** Please follow the instructions for use in the Novolink™ Polymer Detection Systems. For further product information or support, contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

The performance of this antibody should be validated when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

## Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not freeze. Return to 2–8 °C immediately after use. Do not use after expiration date indicated on the vial label. Storage conditions other than those specified above must be verified by the user.

## Specimen Preparation

The recommended fixative is 10% neutral-buffered formalin for paraffin-embedded tissue sections.

## Warnings and Precautions

This reagent has been prepared from the supernatant of cell culture. As it is a biological product, reasonable care should be taken when handling it.

This reagent contains sodium azide. A Material Safety Data Sheet is available upon request or available from [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

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. Seek medical advice.

Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.

Incubation times or temperatures, other than those specified, may give erroneous results. Any such changes must be validated by the user.

## Quality Control

Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results, necessitating regular performance of in-house controls in addition to the following procedures.

Controls should be fresh autopsy/biopsy/surgical specimens, formalin-fixed, processed and paraffin wax-embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s).

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

One positive tissue control should be included for each set of test conditions in each staining run.

A tissue with weak positive staining is more suitable than a tissue with strong positive staining for optimal quality control and to detect minor levels of reagent degradation.<sup>2</sup>

Recommended positive control tissue is endometrium.

If the positive tissue control fails to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

## Negative Tissue Control

Should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of the target antigen by the primary antibody.

Recommended negative control tissue is endothelial elements of tonsil.

Alternatively, the variety of different cell types present in most tissue sections frequently offers negative control sites, but this should be verified by the user.

Non-specific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain non-specifically.<sup>3</sup> False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products.

They may also be caused by endogenous enzymes such as pseudoperoxidase (erythrocytes), endogenous peroxidase (cytochrome C), or endogenous biotin (eg. liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used. To differentiate endogenous enzyme activity or non-specific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate chromogen or enzyme complexes (avidin-biotin, streptavidin, labeled polymer) and substrate-chromogen, respectively. If specific staining occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

## Negative Reagent Control

Use a non-specific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate non-specific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site.

## Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-ER-6F11/2 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

## Results Expected

### Normal Tissues

Clone 6F11 detects the estrogen receptor (ER) alpha antigen in the nuclei of cells that express high levels of ER, including a proportion of endometrial, ovarian and myometrial cells, and normal breast ductal cells. Staining may also be seen in tonsil mucosa and a proportion of germinal center lymphoid cells. (Total number of normal cases evaluated =136).

### Abnormal Tissues

Clone 6F11 stained 137/222 tumors evaluated, including breast tumors (131/180), thyroid papillary carcinomas (3/4), ovarian tumors (2/4, including 1/2 cystadenocarcinomas and 1/1 clear cell carcinomas), metastatic tumors of unknown origin (1/2), lung tumors (0/4), liver tumors (0/4), brain tumors (0/2), squamous cell carcinomas of the esophagus (0/2), stomach adenocarcinomas (0/2), soft tissue tumors (0/2), squamous cell carcinomas of the tongue (0/2), renal cell carcinomas (0/2), squamous cell carcinomas of the cervix (0/2), testicular seminomas (0/2), colon adenocarcinomas (0/2), rectal adenocarcinomas (0/2), skin tumors (0/2), squamous cell carcinomas of the larynx (0/1) and atypical carcinoid tumors of the thymus (0/1). (Total number of tumor cases evaluated = 222).

**NCL-L-ER-6F11/2 is recommended for determining the estrogen receptor alpha status of breast cancer tissues.**

## General Limitations

Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.

Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the tissue.<sup>4</sup> Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Antibodies from Leica Biosystems Newcastle Ltd are for use, as indicated, on either frozen or paraffin-embedded sections with specific fixation requirements. Unexpected antigen expression may occur, especially in neoplasms. The clinical interpretation of any stained tissue section must include morphological analysis and the evaluation of appropriate controls.

## Bibliography - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Amendments to Previous Issue

Recommendations On Use, Results Expected, Bibliography - General.

## Date of Issue

03 September 2019

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal Liquide de Souris

## Estrogen Receptor

### Référence du Produit: NCL-L-ER-6F11/2

#### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-ER-6F11/2 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la molécule Estrogen Receptor sur des coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

#### Principe de la Procédure

Les techniques de marquage immunohistochimique (IHC) permettent la visualisation des antigènes via l'application séquentielle d'un anticorps spécifique sur un antigène (anticorps primaire), d'un anticorps secondaire sur l'anticorps primaire et d'un complexe enzymatique comportant un substrat chromogène, avec des étapes de lavage intercalées. L'activation enzymatique du chromogène se traduit par la présence d'un produit de réaction visible au niveau du site de l'antigène. Le spécimen peut ensuite faire l'objet d'une coloration de contraste et être placé sous une lamelle. Les résultats sont interprétés à l'aide d'un microscope optique et participent au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, susceptibles, ou non, d'être associés à un antigène particulier.

#### Clone

6F11

#### Immunogène

Protéine procaryote recombinante correspondant à la longueur totale de la forme alpha de la molécule du récepteur des œstrogènes humains.

#### Spécificité

Récepteur des œstrogènes humains.

#### Composition du Réactif

Le NCL-L-ER-6F11/2 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azide de sodium comme conservateur.

#### Classe d'Ig

IgG1

#### Concentration Totale en Protéines

Total Protein

La concentration totale en protéines, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

#### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 67,5 mg/L, déterminée par la méthode ELISA. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

#### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER):** Veuillez respecter le mode d'emploi de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Dilution préconisée:** 1:50 durant 30 minutes à 25 °C. Ceci n'est donné qu'à titre indicatif et les utilisateurs doivent déterminer leurs propres dilutions de travail optimales.

**Visualisation:** Veuillez respecter le mode d'emploi des Novolink™ Polymer Detection Systems. Pour plus d'informations sur le produit ou pour toute assistance, contactez votre représentant local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou sinon rendez vous sur le site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) de Leica Biosystems.

Les performances de cet anticorps devront être validées lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuels ou plates-formes automatisées.

#### Conservation et Stabilité

Conserver à 2–8 °C. Ne pas congeler. Remettre immédiatement à 2–8 °C après utilisation. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient. Les conditions de conservation autres que celles qui sont spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur.

#### Préparation des Spécimens

Le fixateur recommandé est le formol à 10%, tamponné, neutre, pour coupes tissulaires incluses en paraffine.

#### Mises en Garde et Précautions

Ce réactif a été préparé à partir du surnageant d'une culture cellulaire. Du fait de sa nature de produit biologique, sa manipulation doit faire l'objet du plus grand soin.

Ce réactif contient de l'azide de sodium. Une Fiche de données de sécurité est disponible sur demande ou sur le site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales en vigueur relatives à l'élimination de tous les éléments potentiellement toxiques.

Les spécimens, avant et après fixation, ainsi que toutes les matières ayant été en contact avec eux, doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et être éliminés en respectant les précautions appropriées<sup>1</sup>. Ne jamais pipeter les réactifs avec la bouche et éviter tout contact des réactifs et des spécimens avec la peau et les membranes muqueuses. Rincer avec de grandes quantités d'eau en cas de contact des réactifs ou des spécimens avec des zones sensibles. Consulter un médecin.

Minimiser la contamination microbienne des réactifs sinon un accroissement du marquage non spécifique est susceptible de se produire.

Des durées et des températures d'incubation différentes de celles qui ont été spécifiées sont susceptibles de conduire à des résultats erronés. Toutes les modifications doivent être validées par l'utilisateur.

### Contrôle de Qualité

Des différences de traitement des tissus et de procédures techniques du laboratoire de l'utilisateur sont susceptibles de conduire à une variabilité significative des résultats, ce qui rend nécessaire la mise en œuvre de contrôles en interne en plus des procédures suivantes.

Les contrôles doivent être des spécimens frais provenant d'autopsies, de biopsies ou d'interventions chirurgicales, fixés au formol, traités et inclus en cire de paraffine dès que possible, de la même façon que le(s) échantillon(s) de patient.

### Tissu de Contrôle Positif

Il est utilisé pour indiquer que les tissus ont été préparés correctement et que les techniques de marquage étaient appropriées.

Un contrôle tissulaire positif doit être inclus dans toute opération de marquage pour chaque ensemble de conditions d'analyse.

Un tissu présentant un marquage faiblement positif est plus adapté à un contrôle de qualité optimal qu'un tissu présentant un marquage fortement positif et il permet de détecter de moindres niveaux de dégradation du réactif.<sup>2</sup>

Le tissu de contrôle positif recommandé est L'endomètre.

Si le tissu de contrôle positif ne présente pas de marquage positif, les résultats des spécimens analysés doivent être considérés comme invalides.

### Tissu de Contrôle Négatif

Il doit être examiné après le tissu de contrôle positif afin de vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire.

Les amygdales constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

Sinon, la diversité des types cellulaires présents dans la plupart des tissus permet de disposer fréquemment de sites de contrôle négatif, mais ils doivent être vérifiés par l'utilisateur.

S'il est présent, le marquage non spécifique prend habituellement une apparence diffuse. Un marquage sporadique du tissu conjonctif peut également être observé sur des coupes de tissus qui ont été fixées par un excès de formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats du marquage. Les cellules nécrotiques ou dégénérées sont souvent marquées de façon non spécifique.<sup>3</sup>

Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique à des protéines ou à des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (foie, sein, cerveau, rein, par exemple) selon le type d'immunomarquage utilisé. Pour différencier l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être marqués exclusivement avec le substrat chromogène ou par des complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) et le substrat chromogène respectivement. Si un marquage spécifique se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats des spécimens du patient doivent être considérés comme invalides.

### Réactif de Contrôle Négatif

Utiliser un réactif de contrôle négatif non spécifique à la place de l'anticorps primaire avec une coupe de chaque spécimen du patient afin d'évaluer le marquage non spécifique et de permettre une meilleure interprétation du marquage spécifique au niveau du site antigénique.

### Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-ER-6F11/2 en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

### Résultats Attendus

#### Tissus normaux

Le clone 6F11 détecte l'antigène alpha du récepteur des œstrogènes (RO) dans le noyau des cellules qui expriment des niveaux élevés de RO, y compris une proportion des cellules endométriales, ovariennes et myométriques et des cellules canalaire mammaires normales. Le marquage peut aussi être constaté dans la muqueuse des amygdales et une proportion de cellules lymphoïdes du centre germinatif. (Nombre total de cas normaux évalués = 136).

#### Tissus tumoraux

Le clone 6F11 a marqué 137/222 tumeurs évaluées, dont des tumeurs du sein (131/180), des carcinomes papillaires de la thyroïde (3/4), des tumeurs de l'ovaire (2/4, dont 1/2 cystadénocarcinomes et 1/1 carcinome à cellules claires), des tumeurs métastatiques d'origine inconnue (1/2), des tumeurs du poumon (0/4), des tumeurs du foie (0/4), des tumeurs cérébrales (0/2), des carcinomes squameux de l'œsophage (0/2), des adénocarcinomes gastriques (0/2), des tumeurs des tissus mous (0/2), des carcinomes squameux de la langue (0/2), des carcinomes à cellules rénales (0/2), des carcinomes squameux du col utérin (0/2), des séminomes testiculaires (0/2), des adénocarcinomes du côlon (0/2), des adénocarcinomes du rectum (0/2), des tumeurs de la peau (0/2), des carcinomes squameux du larynx (0/1) et des tumeurs carcinoïdes atypiques du thymus (0/1). (Nombre total de cas de tumeur évalués = 222).

**L'utilisation du NCL-L-ER-6F11/2 est recommandée dans le cadre de la détermination du statut des tissus mammaires cancéreux vis-à-vis du récepteur alpha des œstrogènes.**

### Limites Générales

L'immunohistochimie est un processus diagnostique constitué de plusieurs étapes qui nécessite une formation spécialisée relative au choix des réactifs appropriés ; au choix, à la fixation et au traitement des tissus ; à la préparation des lames IHC ; et à l'interprétation des résultats du marquage.

Le marquage des tissus dépend de leur manipulation et de leur traitement avant le marquage. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe, incorrects ou une contamination par d'autres tissus ou d'autres liquides sont susceptibles de conduire à la production d'artefacts, au piégeage de l'anticorps ou à des résultats faussement négatifs. Des variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion, ainsi que des irrégularités propres au tissu, peuvent conduire à des résultats incohérents.<sup>4</sup>

Une coloration de contraste excessive ou incomplète peut gêner l'interprétation correcte des résultats.

L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Les anticorps de Leica Biosystems Newcastle Ltd sont destinés, selon les besoins, à être utilisés sur des coupes incluses en paraffine ou des coupes congelées, et conformément à des exigences particulières en matière de fixation. Une expression antigénique inattendue est susceptible de se produire, en particulier au niveau des néoplasmes. L'interprétation clinique de toute coupe tissulaire marquée doit comporter une analyse morphologique et l'évaluation des contrôles appropriés.

## Bibliographie Générale

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

Recommandations d'utilisation, Résultats Attendus, Bibliographie Générale.

## Date de Publication

03 septembre 2019



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido

## Estrogen Receptor

### Codice Del Prodotto: NCL-L-ER-6F11/2

#### Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-ER-6F11/2 è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica della molecole Estrogen Receptor, in sezioni incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

#### Principio Della Procedura

Le tecniche di colorazione immunostochimica (IHC) consentono la visualizzazione degli antigeni mediante l'applicazione sequenziale di un anticorpo specifico per l'antigene (anticorpo primario), di un anticorpo secondario che lega l'anticorpo primario e di un complesso enzimatico con un substrato cromogeno; l'applicazione dei tre reagenti è intervallata da fasi di lavaggio. L'attivazione enzimatica del cromogeno produce una reazione visibile in corrispondenza del sito antigenico. Il campione biologico può, quindi, essere controcolorato e montato. I risultati vengono interpretati mediante un microscopio ottico e sono utili nella diagnosi differenziale di processi fisiopatologici, che possono essere più o meno associati ad un particolare antigene.

#### Clone

6F11

#### Immunogeno

Proteina ricombinante procariotica, corrispondente alla forma alfa completa (full-length) della molecola recettoriale estrogenica umana.

#### Specificità

Recettore estrogenico umano.

#### Composizione Del Reagente

NCL-L-ER-6F11/2 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente di sodio azide come conservante.

#### Classe Ig

IgG1

#### Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione proteica totale specifica del lotto.

#### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 67,5 mg/L, come determinato mediante test ELISA. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

#### Raccomandazioni Per L'uso

Immunostochimica su sezioni incluse in paraffina.

**Smascheramento antigenico termoidotto (HIER):** Si prega di seguire le istruzioni per l'uso fornite in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluizione raccomandata:** 1:50 per 30 minuti a 25 °C. Queste raccomandazioni costituiscono delle semplici linee guida; spetta al singolo utente stabilire le diluizioni di lavoro ottimali.

**Visualizzazione:** Si raccomanda di seguire le istruzioni per l'uso dei Novolink™ Polymer Detection Systems. Per ulteriori informazioni sui prodotti o assistenza, contattare il distributore di zona o la sede regionale di Leica Biosystems, oppure visitare il sito internet di Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

La resa di questo anticorpo deve essere validata quando viene utilizzato con altri metodi di colorazione manuale o piattaforme automatizzate.

#### Conservazione E Stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non congelare. Immediatamente dopo l'uso, raffreddare di nuovo a 2–8 °C. Non usare dopo la data di scadenza, indicata sull'etichetta del flacone. Condizioni di conservazione diverse da quelle sopra specificate vanno verificate dall'utente.

#### Preparazione Del Campione Biologico

Il fissativo raccomandato è la formalina tamponata neutra al 10% per sezioni tissutali incluse in paraffina.

#### Avvertenze E Precauzioni

Questo reagente è stato preparato dal supernatante di coltura cellulare. Trattandosi di un prodotto biologico, va maneggiato con cautela. Questo reagente contiene sodio azide. Una scheda di sicurezza del prodotto (MSDS) è disponibile su richiesta o dal sito [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Fare riferimento alla normativa federale, statale o locale per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.

Prima e dopo la fissazione, i campioni biologici e tutti i materiali ad essi esposti vanno trattati come potenzialmente infettanti e smaltiti con le appropriate precauzioni. Non pipettare i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con zone sensibili, sciacquare abbondantemente le parti interessate. Consultare il medico.

Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti, allo scopo di evitare un aumento di colorazione aspecifica.

Tempi o temperature d'incubazione diversi da quelli specificati possono condurre a risultati non veritieri. Tali variazioni devono essere convalidate dall'utente.

### **Controllo Qualità**

Differenze nella processazione del tessuto e nelle tecniche in uso presso il laboratorio dell'utente possono produrre una discrepanza significativa nei risultati, rendendo necessaria la regolare esecuzione di controlli interni, in aggiunta alle procedure descritte di seguito.

I controlli devono essere costituiti da campioni biologici freschi autoptici/bioptici/chirurgici e devono essere il più rapidamente possibile fissati in formalina, processati ed inclusi in paraffina, allo stesso modo dei campioni biologici ottenuti dal paziente.

### **Controllo Positivo Del Tessuto**

È usato per indicare tessuti correttamente preparati e tecniche di colorazione appropriate.

Per ogni gruppo di condizioni del test e ogni volta che viene eseguita la colorazione, deve essere incluso un controllo positivo del tessuto.

Un tessuto a debole colorazione positiva è più adatto di uno a colorazione positiva intensa per un ottimale controllo qualità e per mettere in evidenza anche minimi livelli di degradazione del reagente.<sup>2</sup>

Il tessuto raccomandato per il controllo positivo è l'endometrio.

Se il controllo positivo del tessuto non dimostra colorazione positiva, i risultati con i campioni biologici del test vanno considerati non validi.

### **Controllo Negativo Del Tessuto**

Va esaminato dopo il controllo positivo, per verificare la specificità nei confronti dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario.

Il tessuto raccomandato per il controllo negativo è la tonsilla.

In alternativa, la varietà dei tipi cellulari presenti nella maggior parte delle sezioni tissutali offre spesso siti di controllo negativo, ma questo va verificato dall'utente.

La colorazione aspecifica, se presente, assume di solito aspetto diffuso. La colorazione sporadica del tessuto connettivo può anche manifestarsi in seguito ad iperfissazione di sezioni di tessuto in formalina. Per l'interpretazione dei risultati della colorazione, usare cellule intatte. Le cellule necrotiche o degenerate si colorano spesso in maniera aspecifica<sup>3</sup>. Si possono osservare risultati falsamente positivi, dovuti a legame non immunologico delle proteine o a prodotti di reazione del substrato. Tali falsi positivi possono essere anche causati da enzimi endogeni quali la pseudoperossidasi (eritrociti), la perossidasi endogena (citocromo C) o la biotina endogena (es. fegato, mammella, cervello, rene), a seconda del tipo di immunocolorazione usato. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame enzimatico aspecifico dall'immunoreattività specifica, possono essere colorati ulteriori tessuti del paziente esclusivamente con substrato cromogeno o con complessi enzimatici (avidina-biotina, streptavidina, polimero marcato) e substrato cromogeno. Se nel controllo negativo del tessuto compare una colorazione specifica, i risultati sui campioni biologici ottenuti dal paziente devono essere considerati non validi.

### **Controllo Negativo Del Reagente**

Usare un controllo negativo aspecifico del reagente in luogo dell'anticorpo primario, con una sezione di ogni campione biologico del paziente, per valutare la colorazione aspecifica e per consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica in corrispondenza del sito antigenico.

### **Tessuto Del Paziente**

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-ER-6F11/2. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunistochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

### **Risultati Attesi**

#### Tessuti normali

Il clone 6F11 rileva l'antigene alfa del recettore dell'estrogeno (ER) nei nuclei delle cellule che esprimono livelli elevati di ER, tra cui una proporzione di cellule endometriali, ovariche e miometriali e cellule duttali della mammella normale. È possibile osservare inoltre la colorazione nella mucosa tonsillare e in una proporzione di cellule linfoidi del centro germinale. (Numero complessivo di casi normali valutati = 136).

#### Tessuti tumorali

Il clone 6F11 ha colorato 137/222 tumori valutati, tra cui tumori della mammella (131/180), carcinomi papillari della tiroide (3/4), tumori dell'ovario (2/4, inclusi 1/2 cistoadenocarcinomi e 1/1 carcinomi a cellule chiare), tumori metastatici di origine sconosciuta (1/2), tumori del polmone (0/4), tumori del fegato (0/4), tumori del cervello (0/2), carcinomi a cellule squamose dell'esofago (0/2), adenocarcinomi dello stomaco (0/2), tumori dei tessuti molli (0/2), carcinomi a cellule squamose della lingua (0/2), carcinomi a cellule renali (0/2), carcinomi a cellule squamose della cervice (0/2), seminomi testicolari (0/2), adenocarcinomi del colon (0/2), adenocarcinomi rettili (0/2), tumori della pelle (0/2), carcinomi a cellule squamose della laringe (0/1) e tumori carcinoidi atipici del timo (0/1). (Numero complessivo di casi di tumori valutati = 222).

**Si raccomanda l'uso di NCL-L-ER-6F11/2 nella determinazione dello stato del recettore estrogenico alfa nel tessuto canceroso mammario.**

### **Limitazioni Generali**

L'immunistochimica è un procedimento diagnostico a più passi (multistep) che richiede un'esperienza specifica nella selezione dei reagenti appropriati, nella selezione, fissazione e processazione dei tessuti, nella preparazione di vetrini IHC e nell'interpretazione dei risultati della colorazione.

La colorazione del tessuto dipende dalle modalità di manipolazione e di processazione del tessuto stesso, adottate prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento o la sezione condotti in modo non corretto, o la contaminazione con altri tessuti o liquidi, possono produrre artefatti, intrappolamento (trapping) anticorpale o risultati falsi negativi. Risultati incompatibili possono essere dovuti a modifiche dei metodi di fissazione e di inclusione o ad irregolarità intrinseche al tessuto.<sup>4</sup>

Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.

L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, in contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

Gli anticorpi di Leica Biosystems Newcastle Ltd. sono destinati all'uso, quando indicato, su sezioni congelate o incluse in paraffina, con specifici requisiti di fissazione. Un'espressione antigenica inattesa può manifestarsi in particolare nelle neoplasie. L'interpretazione clinica di ogni sezione tissutale colorata deve includere l'analisi morfologica e la valutazione dei controlli appropriati.

## Riferimenti Bibliografici Di Base

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired estrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

Raccomandazioni Per L'uso, Risultati Attesi, Riferimenti Bibliografici Di Base.

## Data Di Pubblicazione

03 settembre 2019

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper

## Estrogen Receptor

### Produkt-Nr.: NCL-L-ER-6F11/2

#### Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-ER-6F11/2 ist für den qualitativen Nachweis der Estrogen Receptor-Moleküle in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie gedacht. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

#### Verfahrensgrundlage

Immunhistochemische (IHC) Färbetechniken gestatten die optische Darstellung von Antigenen mittels sequentieller Anwendung eines spezifischen Antikörpers zum Antigen (primärer Antikörper), eines sekundären Antikörpers zum primären Antikörper und eines Enzymkomplexes mit einem chromogenen Substrat, jeweils getrennt durch dazwischen liegende Waschschrte. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt am Ort des Antigens. Die Probe kann dann gegengefärbt und mit einem Deckglas versehen werden. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichtmikroskops interpretiert und unterstützen die Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die mit einem bestimmten Antigen assoziiert sein könnten.

#### Klon

6F11

#### Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Protein, das der Alpha-Form (in voller Länge) des humanen Östrogenrezeptor-Moleküls entspricht.

#### Spezifität

Humaner Östrogenrezeptor.

#### Reagenzzusammensetzung

NCL-L-ER-6F11/2 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, derol/ Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

#### Ig-Klasse

IgG1

#### Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

#### Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 67,5 mg/L laut ELISA-Bestimmung. Hinsichtlich der chargenspezifischen Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

#### Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten

**Hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER):** Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 befolgen.

**Empfohlene Verdünnung:** 1:50 über einen Zeitraum von 30 Minuten bei 25 °C. Dies ist nur eine Empfehlung, und die Benutzer sollten ihre eigenen optimalen Arbeitsverdünnungen bestimmen.

**Visualisierung:** Bitte Gebrauchsanweisung für Novolink™ Polymer Detection Systems befolgen. Wenn Sie weitere Produktinformationen oder Unterstützung wünschen, setzen Sie sich bitte mit ihrem Händler vor Ort oder mit der Zweigniederlassung von Leica Biosystems in Verbindung beziehungsweise besuchen Sie die Internetseite von Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Die Leistungsfähigkeit dieses Antikörpers sollte bestätigt werden, wenn er mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Plattformen eingesetzt wird.

#### Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des Verfallsdatums (auf dem Behälteretikett) darf das Produkt nicht mehr verwendet werden. Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden.

#### Probenvorbereitung

Für paraffineingebettete Gewebeschnitte ist das empfohlene Fixativ 10% neutral gepuffertes Formalin.

#### Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

Dieses Reagenz wurde aus Zellkulturüberstand zubereitet. Das Reagenz ist ein biologisches Produkt und sollte mit entsprechender Vorsicht gehandhabt werden.

Dieses Reagenz enthält Natriumazid. Ein Material Sicherheits-Datenblatt ist auf Anfrage von [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) erhältlich. Die entsprechenden nationalen und lokalen Bestimmungen und Vorschriften zur Entsorgung potentiell giftiger Komponenten sind einzuhalten.

Vor und nach der Fixierung sind die Proben sowie alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt gekommen sind, als potentiell infektiös zu behandeln und daher mit entsprechender Vorsicht zu entsorgen.<sup>1</sup> Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden, und jeglicher Kontakt der Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen. Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann. Falls die spezifizierten Inkubationszeiten oder –temperaturen nicht eingehalten werden, kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen. Jegliche Abweichungen von den angegebenen Werten müssen vom Benutzer verifiziert werden.

### **Qualitätskontrolle**

Unterschiede bei der Gewebeparbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu signifikanten Schwankungen bei den Ergebnissen führen. Daher ist es wichtig, zusätzlich zu den folgenden Verfahren regelmäßige laborinterne Kontrollen durchzuführen.

Die Kontrollen sollten mit frischen Autopsie-/Biopsie-/chirurgischen Proben vorgenommen werden, die so bald wie möglich und auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe(n) in Formalin fixiert, behandelt und in Paraffin eingebettet worden sind.

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

In jedem Färbelauf sollte für jeden Satz Testbedingungen eine positive Gewebekontrolle durchgeführt werden.

Gewebe mit schwach positiver Färbung ist für die optimale Qualitätskontrolle und den Nachweis kleiner Minderungen in der Reagenzleistung besser geeignet als ein Gewebe mit stark positiver Färbung.<sup>2</sup>

Für die positive Gewebekontrolle wird Endometrium-Gewebe empfohlen.

Falls das positive Kontrollgewebe keine positive Färbung nachweisen kann, sollten die mit den Testproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden.

### **Negative Gewebekontrolle**

Die negative Gewebekontrolle sollte nach der positiven Gewebekontrolle erfolgen, um die Spezifität der Zielantigenmarkierung durch den primären Antikörper zu verifizieren.

Für die negative Gewebekontrolle wird Tonsillengewebe empfohlen.

Alternativ bietet die Vielfalt unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorliegen, häufig Stellen für eine negative Kontrolle. Jedoch sollte dies vom Benutzer verifiziert werden.

Liegt eine unspezifische Färbung vor, hat diese gewöhnlich ein diffuses Erscheinungsbild. Eine sporadische Färbung des Bindegewebes kann ebenfalls in Schnitten von übermäßig formalinfixierten Geweben beobachtet werden. Zur Bewertung der Färberegebnisse intakte Zellen verwenden. Nekrotische oder degenerierte Zellen werden oft unspezifisch gefärbt.<sup>3</sup> Falsch-positive Ergebnisse können aufgrund einer nichtimmunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten beobachtet werden. In Abhängigkeit von der Art der verwendeten Immunfärbung können solche Ergebnisse auch durch endogene Enzyme wie Pseudoperoxidase (Erythrozyten), endogene Peroxidase (Zytochrom C) oder endogenes Biotin (beispielsweise Leber, Mamma, Gehirn, Niere) hervorgerufen werden. Um eine endogene Enzymaktivität bzw. eine unspezifische Enzymbindung von einer spezifischen Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substratchromogen bzw. mit Enzymkomplexen (Avidin-Biotin, Streptavidin, markiertes Polymer) plus Substratchromogen gefärbt werden. Falls im negativen Kontrollgewebe eine spezifische Färbung auftritt, sollten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

### **Negative Reagenzkontrolle**

Zur Beurteilung einer unspezifischen Färbung und zur besseren Bewertung einer spezifischen Färbung an der Antigenstelle ist mit einem Schnitt jedes Patientenpräparates anstelle des primären Antikörpers eine unspezifische negative Reagenzkontrolle zu verwenden.

### **Patientengewebe**

Die mit NCL-L-ER-6F11/2 gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Farbeintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Bei Bedarf sollte zur Identifizierung falsch-negativer Reaktionen eine Gruppe von Antikörpern verwendet werden.

### **Erwartete Ergebnisse**

#### Normale Gewebe

Klon 6F11 erkennt das  $\alpha$ -Antigen des Östrogenrezeptors (Estrogen Receptor, ER) in den Nuklei von Zellen mit hohen ER-Spiegeln, einschließlich eines Anteils endometrialer, ovarialer und myometrialer Zellen sowie normaler duktaler Brustzellen. Die Färbung ist auch in der Mandelschleimhaut und in einem Anteil an Keimzentrum-Lymphoidzellen. (Gesamtanzahl der evaluierten normalen Fälle = 136.)

#### Tumorgewebe

Klon 6F11 färbte 137/222 der evaluierten Tumore, darunter Brusttumore (131/180), papilläre Schilddrüsenkarzinome (3/4), Eierstocktumore (2/4, einschließlich 1/2 Zystadenokarzinomen und 1/1 klarzelliger Karzinomen), metastatische Tumore unbekannter Herkunft (1/2), Lungentumore (0/4), Lebertumore (0/4), Hirntumore (0/2), Plattenepithelkarzinome des Oesophagus (0/2), Magenadenokarzinome (0/2), Weichgewebetumore (0/2), Plattenepithelkarzinome der Zunge (0/2), renale Epithelkarzinome (0/2), Plattenepithelkarzinome der Zervix (0/2), Hodenseminome (0/2), Colonadenokarzinome (0/2), rektale Adenokarzinome (0/2), Hauttumore (0/2), Plattenepithelkarzinome des Larynx (0/1) sowie atypische karzinoide Tumore des Thymus (0/1). (Gesamtanzahl der evaluierten Tumorfälle = 222).

**NCL-L-ER-6F11/2 wird für die Bestimmung des Östrogenrezeptor-Alphastatus beim Mammakarzinom empfohlen.**

## Allgemeine Beschränkungen

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der eine spezialisierte Ausbildung auf den folgenden Gebieten erfordert: Auswahl der entsprechenden Reagenzien; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung des IHC-Objekträgers sowie Bewertung der Färberegebnisse.

Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor dem Färben ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Schneiden oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Abweichende Ergebnisse können aufgrund von Unterschieden bei der Fixierung und Einbettung oder intrinsischen Unregelmäßigkeiten im Gewebe selbst entstehen.<sup>4</sup>

Eine exzessive oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Bewertung von Ergebnissen gefährden.

Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Antikörper von Leica Biosystems Newcastle Ltd sind wo angezeigt für die Verwendung entweder auf gefrorenen oder in Paraffin eingebetteten Schnitten mit spezifischen Fixierungsanforderungen bestimmt. Es kann insbesondere bei Neoplasmen zu einer unerwarteten Antigenexpression kommen. Die klinische Bewertung eines gefärbten Gewebeschnitts muss eine morphologische Analyse und die Auswertung der entsprechenden Kontrollen einschließen.

## Literatur - Allgemein

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison With Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas with conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

Gebrauchsempfehlungen, Erwartete Ergebnisse, Literatur - Allgemein.

## Ausgabedatum

03 September 2019

ER-6F11-L-2-CE

Page 13

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal Líquidos de Ratón

## Estrogen Receptor

### Código De Producto: NCL-L-ER-6F11/2

#### Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-ER-6F11/2 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Estrogen Receptor. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Principio Del Procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHQ) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce una reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjeto. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

#### Clon

6F11

#### Inmunógeno

Proteína recombinante procarciática, correspondiente a la forma alfa de longitud completa, de la molécula receptora de estrógenos humana.

#### Especificidad

Receptor de estrógenos humano.

#### Composición Del Reactivo

NCL-L-ER-6F11/2 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

#### Clase de Ig

IgG1

#### Concentración Total De Proteína

Total Protein

Consulte la etiqueta del vial para ver la concentración total de proteína específica del lote.

#### Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 67,5 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

#### Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

**Recuperación de epítomos inducida por calor (HIER):** Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Dilución sugerida:** 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

**Visualización:** Por favor, siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir soporte, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

#### Almacenamiento Y Estabilidad

Almacénelo a una temperatura de 2–8 °C. No lo congele. Devuélvalo a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

#### Preparación De Las Muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidos en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

#### Advertencias Y Precauciones

Este reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de un cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Hoja de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.<sup>1</sup> No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lave éstas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

### **Control De Calidad**

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas e incluidas en parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

### **Control Tisular Positivo**

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.<sup>2</sup>

El tejido de control positivo recomendado es endometrio.

Si el tejido de control positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

### **Control Tisular Negativo**

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es amígdala.

O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.<sup>3</sup> También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

### **Control De Reactivo Negativo**

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

### **Tejido Del Paciente**

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-ER-6F11/2 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

### **Resultados esperados**

#### **Tejidos normales**

El clon 6F11 detecta el antígeno del receptor estrogénico (RE) alfa de los núcleos de células que expresan altos niveles de RE, incluida una proporción de células endometriales, ováricas y miometriales y células ductales de mama normales. También se puede apreciar tinción en la mucosa de la tonsila y en una proporción de células linfoides con centros germinales. (Número total de casos normales evaluados = 136).

#### **Tejidos tumorales**

El clon 6F11 teñió 137 de los 222 tumores evaluados, incluidos tumores de mama (131/180), carcinomas papilares tiroideos (3/4), tumores de ovario (2/4), incluidos 1/2 cistoadenocarcinomas y 1/1 carcinomas con células claras), tumores metastásicos de origen desconocido (1/2), tumores pulmonares (0/4), tumores hepáticos (0/4), tumores cerebrales (0/2), carcinomas de células escamosas del esófago (0/2), adenocarcinomas de estómago (0/2), tumores del tejido blando (0/2), carcinomas de células escamosas de la lengua (0/2), carcinomas de células renales (0/2), carcinomas de células escamosas del cuello del útero (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas de colon (0/2), adenocarcinomas rectales (0/2), tumores cutáneos (0/2), carcinomas de células escamosas de la laringe (0/1) y carcinoides atípicos de timo (0/1). (Número total de casos de tumores evaluados = 222).

**NCL-L-ER-6F11/2 se recomienda para determinar el estado del receptor de estrógenos alfa del tejido de cáncer de mama.**



## Limitaciones Generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHQ, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.<sup>4</sup>

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o incluidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

## Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khuruna KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katssetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor-α Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Correcciones A La Publicación Anterior

Recomendaciones De Uso, Resultados esperados, Bibliografía - General.

## Fecha De Publicación

03 de septiembre de 2019

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal Líquido de Ratinho

## Estrogen Receptor

### Código Do Produto: NCL-L-ER-6F11/2

#### Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-ER-6F11/2 foi concebido para efectuar a identificação qualitativa da moléculas de Estrogen Receptor por microscopia óptica, em secções parafinizadas. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

#### Princípio Do Procedimento

As técnicas de coloração imunohistoquímica (IHC) permitem que se faça a visualização de antígenos por meio da aplicação sequencial de um anticorpo específico do antígeno (o anticorpo primário), de um anticorpo secundário ao anticorpo primário, e de um complexo enzimático com um substrato cromogénico e etapas de lavagem de permeio. A activação enzimática do cromogénio resulta num produto de reacção visível no local do antígeno. A amostra pode então ser contrastada e coberta com uma lamela. Os resultados são interpretados por meio de um microscópio óptico, e ajudam a formular o diagnóstico diferencial dos processos fisiopatológicos, os quais podem ou não estar associados a antígenos específicos.

#### Clone

6F11

#### Imunogénio

Proteína recombinante procarciótica correspondendo à forma alfa de comprimento total da molécula receptora de estrogénio humana.

#### Especificidade

Receptor de estrogénio humano.

#### Composição Do Reagente

NCL-L-ER-6F11/2 é o sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo de azida de sódio como produto conservante.

#### Classe De Ig

IgG1

#### Concentração Total De Proteína

Total Protein

Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração total de proteína do lote específico.

#### Concentração De Anticorpo

Maior que ou igual a 67,5 mg/L, conforme determinado por ELISA. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

#### Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

**Recuperação de epitopos induzida pelo calor (HIER):** Queira seguir as instruções de utilização de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluição sugerida:** 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta recomendação serve apenas de orientação e os utilizadores devem determinar as suas diluições óptimas de trabalho.

**Visualização:** Queira seguir as instruções de utilização de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para informação adicional do produto ou assistência, contactar o seu distribuidor local ou escritório regional de Leica Biosystems ou, alternativamente, visitar o sítio web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

O desempenho deste anticorpo deve ser validado quando utilizado com outros sistemas manuais de coloração ou plataformas automáticas.

#### Armazenamento E Estabilidade

Armazenar a 2–8 °C. Não congelar. Retornar à temperatura de 2–8 °C imediatamente após a utilização. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo do recipiente. As condições de armazenamento que diferirem das que se encontram especificadas acima devem ser verificadas pelo utilizador.

#### Preparação Das Amostras

O fixador recomendado é formal tamponado neutro a 10% para secções de tecido envolvidas em parafina.

#### Avisos E Precauções

Este reagente foi preparado a partir do sobrenadante de cultura celular. Visto ser um produto biológico, deve ser manuseado com o devido cuidado.

Este reagente contém azida sódica. Encontra-se disponível uma Ficha de Dados de Segurança do Material, mediante pedido ou através do site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consultar a legislação aplicável em relação ao descarte de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.

As amostras, antes e depois da sua fixação, bem como todos os materiais expostos às mesmas, devem ser manipulados como se tivessem a capacidade de transmitir infecções e devem ser descartados com as devidas precauções.<sup>1</sup> Não pipetar nunca os reagentes com a boca e evitar o contacto entre a pele e membranas mucosas e os reagentes e amostras. Caso os reagentes ou amostras entrem em contacto com áreas sensíveis, lavar com grandes quantidades de água. Consultar um médico.

Minimizar a contaminação microbiana dos reagentes para evitar a possibilidade do aumento da coloração não específica.

Os períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados poderão dar azo a resultados errados. Todas as alterações desse tipo devem ser validadas pelo utilizador.

## Controlo Da Qualidade

As diferenças entre os diferentes métodos e técnicas de processamento de tecidos no laboratório do utilizador podem causar uma grande variabilidade de resultados, requerendo a realização frequente de controlos internos suplementares aos procedimentos que se seguem.

Os controlos devem ser amostras de autópsia/biopsia/cirurgia frescas, fixadas em formol, processadas e envolvidas em cera parafínica logo que possível, da mesma maneira que a(s) amostra(s) do(s) doente(s).

## Controlo De Tecido Positivo

Usado para assinalar os tecidos correctamente preparados e as técnicas de coloração indicadas.

Cada conjunto de condições de testes, em cada processo de coloração, deve incluir um controlo de tecido positivo.

Os tecidos com uma coloração positiva fraca são mais indicados do que os têm uma coloração positiva forte para proporcionarem um controlo de qualidade óptimo, bem como para detectar níveis reduzidos de degradação dos reagentes.<sup>2</sup>

O tecido de controlo positivo recomendado é o endométrio.

Se o controlo de tecido positivo não demonstrar uma coloração positiva, os resultados obtidos com as amostras de testes devem ser considerados inválidos.

## Controlo De Tecido Negativo

Este deve ser examinado depois do controlo de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno objectivado pelo anticorpo primário.

O controlo de tecido negativo recomendado é a amígdala.

Alternativamente, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria das secções de tecidos oferece muitas vezes locais de controlo negativo, mas isto deve ser verificado pelo utilizador.

A coloração não específica, caso ocorra, tem geralmente um aspecto difuso. A coloração esporádica do tecido conjuntivo pode também ter lugar em secções de tecido excessivamente fixado em formol. Devem utilizar-se células intactas para a interpretação dos resultados da coloração. As células necróticas ou degeneradas causam muitas vezes uma coloração não específica.<sup>3</sup> Podem verificar-se resultados positivos falsos devido à ligação não imunológica de proteínas ou de produtos da reacção do substrato. Esses resultados podem também ser causados por enzimas endógenas tais como a pseudoperoxidase (eritrócitos), a peroxidase endógena (citocromo C), ou a biotina endógena (ex. no fígado, mama, cérebro ou rim) dependendo do tipo de imunocoloração utilizado. Para diferenciar entre a actividade das enzimas endógenas e as ligações não específicas de enzimas de imunoreactividade específica, podem colorir-se tecidos adicionais dos doentes exclusivamente com substrato cromogénio ou com complexos de enzimas (avidina-biotina, estreptavidina, polímero marcado) e substrato-cromogénio, respectivamente. Se ocorrer a coloração específica no controlo de tecido negativo, os resultados dos testes feitos com as amostras do doente devem ser considerados inválidos.

## Controlo De Reagente Negativo

Utilizar um controlo de reagente negativo não específico em vez do anticorpo primário com uma secção de cada amostra de doente para avaliar a coloração não específica e permitir uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno.

## Tecido Do Doente

Examinar as amostras do doente coloridas com NCL-L-ER-6F11/2 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

## Resultados Previstos

### Tecidos normais

O clone 6F11 deteta o antígeno alfa de recetor de estrogénio (ER) no núcleo de células que expressam níveis elevados de ER, incluindo uma proporção de células endometriais, ováricas e miometriais, e células ductais mamárias normais. A coloração também pode ser observada na mucosa das amígdalas e numa proporção das células linfóides centrais germinais. (Número total de casos normais avaliados = 136).

### Tecidos tumorais

O clone 6F11 corou 137 dos 222 tumores avaliados, incluindo tumores mamários (131/180), carcinomas papilares da tiróide (3/4), tumores ováricos (2/4, incluindo 1/2 citadenocarcinomas e 1/1 carcinomas de células claras), tumores metastáticos de origem desconhecida (1/2), tumores pulmonares (0/4), tumores hepáticos (0/4), tumores cerebrais (0/2), carcinomas de células escamosas do esófago (0/2), adenocarcinomas do estômago (0/2), tumores dos tecidos moles (0/2), carcinomas de células escamosas da língua (0/2), carcinomas de células renais (0/2), carcinomas de células escamosas do colo do útero (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas do cólon (0/2), adenocarcinomas retais (0/2), tumores de pele (0/2), carcinomas de células escamosas da laringe (0/1) e tumores carcinóides atípicos do timo (0/1). (Número total de casos de tumores avaliados = 222).

**NCL-L-ER-6F11/2 é recomendado para determinação do estado do alfa receptor de estrogénio do tecido do cancro da mama.**

## Limitações Gerais

A imunohistoquímica é um processo diagnóstico em múltiplas etapas que consta de: uma formação especializada na selecção dos reagentes apropriados, selecção, fixação e processamento de tecidos, preparação das lâminas de IHQ e interpretação dos resultados das colorações.

A coloração de tecidos depende do seu manuseamento e processamento antes da sua coloração. A fixação, congelação, descongelação, lavagem, secagem, aquecimento ou corte incorrectos das amostras, ou a sua contaminação com outros tecidos ou fluidos, podem produzir artefactos, retenção de anticorpos, ou resultados falso-negativos. Os resultados inconsistentes podem dever-se a variações nos métodos de fixação e envolvimento ou a irregularidades inerentes ao tecido.<sup>4</sup>

Uma contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a correcta interpretação dos resultados.

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

Os anticorpos da Leica Biosystems Newcastle Ltd destinam-se a serem utilizados, conforme indicado, em secções de tecido ou congeladas ou envolvidas em parafina, com requisitos de fixação específicos. Pode ocorrer uma expressão inesperada de antígeno, especialmente em neoplasmas. A interpretação clínica de qualquer secção de tecido colorido deverá incluir a análise morfológica e a avaliação de controlos apropriados.

## **Bibliografia - Geral**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired estrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khuruna KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## **Emendas Da Edição Anterior**

Recomendações Sobre A Utilização, Resultados Previstos, Bibliografia - Geral.

## **Data De Emissão**

03 de Setembro de 2019

# Novocastra™ Flytande Monoklonal Musantikropp

## Estrogen Receptor

### Produktkod: NCL-L-ER-6F11/2

#### Avsedd Användning

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-ER-6F11/2 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av Estrogen Receptor-molekyler i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolg inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

#### Metodens Princip

Immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker tillåter visualisering av antigener genom sekvenstillämpning av en specifik antikropp till antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp till den primära antikroppen och ett enzymkomplex med ett kromogent substrat med inlagda tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenet resulterar i en synlig reaktionsprodukt på antigenområdet. Proverna kan då kontrastfärgas och förses med täckglas. Resultaten tolkas med ljusmikroskop och bidrar till differentialdiagnosen av patofysiologiska processer som eventuellt kan associeras till ett särskilt antigen.

#### Klon

6F11

#### Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant protein motsvarande den fulla längden alfaformen av den humana östrogenreceptormolekylen.

#### Specifitet

Human östrogenreceptor.

#### Reagensinnehåll

NCL-L-ER-6F11/2 är en flytande supernatant från vävnadsodling som innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

#### Ig-klass

IgG1

#### Total Proteinkoncentration

Total Protein

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

#### Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 67,5 mg/L fastställt genom ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

#### Rekommendationer Vid Användning

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

**Värmeinducerad epitopåtervinning (HIER):** Vänligen följ instruktionerna för användning i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Föreslagen spädning:** 1:50 i 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

**Visualisering:** Vänligen följ instruktionerna för användning i Novolink™ Polymer Detection Systems. Om ytterligare produktinformation eller stöd behövs, kontakta då din lokala distributör eller Leica Biosystems regionalkontor, alternativt in på Leica Biosystems webbplats, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Denna antikropps prestanda ska valideras när den används med andra manuella infärgningssystem eller automatiserade plattformar.

#### Förvaring Och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Frys ej. Återgå till 2–8 °C direkt efter användning. Använd ej efter det utgångsdatum som anges på flaskans etikett. Förvaringsförhållanden som skiljer sig från de ovannämnda måste kontrolleras av användaren.

#### Preparation Av Prov

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### Varningar Och Försiktighetsåtgärder

Reagenset har förberetts från supernatanten av vävnadsodlingar. Eftersom det är en biologisk produkt bör skälighets försiktighet iaktas vid hantering.

Detta reagens innehåller natriumazid. Materialsäkerhetsdatablad finns att få på begäran eller från [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

För kassering av potentiellt toxiska komponenter hänvisas till nationella eller lokala bestämmelser.

Före och efter fixering bör prover och alla material som har varit utsatta för dem hanteras som om det finns risk för att de kan överföra infektioner och kasseras med iakttagande av försiktighet. Pipettera aldrig reagenser med munnen och se till att huden och slemhinnorna inte kommer i kontakt med reagens och prover. Om reagens eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.

Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av ospecifik färgning ske.

Inkubationstider eller temperaturer som skiljer sig från dem som specificeras kan ge felaktiga resultat. Alla sådana förändringar måste kontrolleras av användaren.

## Kvalitetskontroll

Skilnader i vävnadsbehandling och tekniska metoder i användarens laboratorium kan ge stor variation i resultaten vilket kan göra det nödvändigt att genomföra regelbundna interna kontroller utöver följande metoder.

Kontroller bör vara färskas obduktions-/biopsi-/kirurgi prover som snarast möjligt formalinfixeras, bearbetas och paraffinbäddas på samma sätt som patientprover.

## Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

En positiv vävnadskontroll bör ingå i varje uppsättning av testförhållanden vid varje färgningskörning.

En vävnad med svag positiv färgning är mer lämplig för optimal kvalitetskontroll och för att upptäcka låga nivåer av reagensdegradering än en vävnad med stark positiv färgning.<sup>2</sup>

Endometrium rekommenderas som positiv kontrollvävnad.

Om den positiva vävnadskontrollen inte uppvisar positiv färgning bör resultat med testproverna anses vara ogiltiga.

## Negativ Vävnadskontroll

Bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att fastställa specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen.

Tonsill rekommenderades som negativ kontrollvävnad.

Alternativt ger ofta en mängd olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt negativa kontrollområden men detta bör kontrolleras av användaren.

Ospecifik färgning, om det förekommer, har ofta ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från överflödigt formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler fångar ofta ospecifikt.<sup>3</sup> Falskt positiva resultat kan uppstå p.g.a. icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av endogena enzymer som pseudoperoxidas (erythrocyter), endogent peroxid (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på typ av immunfärgning som används. För att skilja endogen enzymaktivitet eller ospecifik enzymbindning från specifik immunreaktivitet kan ytterligare patientvävnader färgas exklusivt med respektive substratkromogen eller enzymkomplex (avidin-biotin, streptavidin, märkt polymer) och substrat-kromogen. Om specifik färgning sker i den negativa vävnadskontrollen bör resultat med patientprover anses vara ogiltiga.

## Negativ Reagenskontroll

Använd en ospecifik negativ reagenskontroll istället för den primära antikroppen med ett snitt från varje patientprov för att utvärdera ospecifik färgning och tillåta bättre tolkning av specifik färgning på antigenområdet.

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-ER-6F11/2 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrunds-färgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunohistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en antikroppspanel för att identifiera falskt negativa reaktioner.

## Förväntade Resultat

### Normal vävnad

Klonen 6F11 detekterar östrogenreceptorn (ER) alfa-antigen i kärnor hos celler som uttrycker höga nivåer av ER, inklusive en del av endometrial-, ovarial- och myometrialceller och normala bröstduktala celler. Färgning kan också ses i slemhinna från tonsill och en del av germinalcentrats lymfceller. (Totalt antal normala fall som utvärderats = 136).

### Tumörvävnader

Klonen 6F11 färgade 137/222 utvärderade tumörer, däribland brösttumörer (131/180), papillära carcinom från sköldkörtel (3/4), ovariala tumörer (2/4, inklusive 1/2 cystadenocarcinom och 1/1 klarcellskarcinom), metastatiska tumörer av okänt ursprung (1/2), lungtumörer (0/4), levertumörer (0/4), hjärntumörer (0/2), skivpitelskarcinom från mats труpe (0/2), adenocarcinom från magsäck (0/2), tumörer från mjuk vävnad (0/2), skivcellskarcinom från tunga (0/2), njurcellskarcinom (0/2), skivpitelskarcinom från livmoderhals (0/2), testikel seminom (0/2), kolon-adenocarcinom (0/2), rektala adenocarcinom (0/2), hudtumörer (0/2), skivpitelskarcinom från struphuvud (0/1) och atypiska karcinoida tumörer från thymus (0/1). (Totalt antal fall av tumörer som utvärderats = 222).

### **NCL-L-ER-6F11/2 rekommenderas för att fastställa östrogenreceptorernas alfa-status av bröstcancer vävnad.**

## Allmänna Begränsningar

Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialiserad utbildning i urvalet av lämpliga reagens, val av vävnad, fixering och bearbetning, förberedelse av IHC-objektglaset samt tolkning av färgningsresultaten.

Vävnadsfärgning påverkas av hantering och bearbetning av vävnaden före färgningen. Felaktig fixering, nedfrysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering av andra vävnader eller vätskor kan framställa artefakter, infångande av antikroppar eller falskt negativa resultat. Motsägelsefulla resultat kan bero på variationer av fixerings- och inbäddningsmetoder eller på naturliga oregelbundenheter i vävnaden.<sup>4</sup>

Överflödigt eller ofullständig kontrastfärgning kan försvåra en korrekt tolkning av resultatet.

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

Antikroppar från Leica Biosystems Newcastle Ltd är till för användning så som anges på antingen frysta eller paraffinbäddade snitt med specifika fixeringskrav. Övrigt antigenuttryck kan ske, speciellt i neoplasmer. Morfologisk analys och utvärdering av lämpliga kontroller måste ingå i den kliniska tolkningen av alla färgade vävnadssnitt.

## Bibliografi - Allmän

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Rättelser Av Tidigare Utgivning

Rekommendationer Vid Användning, Förväntade Resultat, Bibliografi - Allmän.

## Utgivningsdatum

03 september 2019

# Novocastra™ Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Estrogen Receptor Κωδικός είδους: NCL-L-ER-6F11/2

## Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

*Gia in vitro διαγνωστική χρήση.*

Το NCL-L-ER-6F11/2 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρώπινης Μόρια Estrogen Receptor σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

## Αρχή Της Διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε αντίκρωση και να καλυφθεί με καλυπτήρια. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με χρήση μικροσκοπίου φωτός και βοηθούν στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

## Κλώνος

6F11

## Ανοσογόνο

Προκαρκατωτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που αντιστοιχεί στην α-μορφή πλήρους μήκους του μορίου του ανθρώπινου υποδοχέα οιστρογόνων.

## Ειδικότητα

Ανθρώπινος υποδοχέας οιστρογόνων.

## Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-ER-6F11/2 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

## Τάξη Ig

IgG1

## Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

Για την ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

## Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 67,5 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

## Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε παρασκευάσματα παραφίνης.

**Ανάκτηση Επίτοπου με Θερμική Επαγωγή (HIER):** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες για τη χρήση στο Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Προτεινόμενη διάλυση:** 1:50 επί 30 λεπτά σε 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους διαλύσεις εργασίας.

**Απεικόνιση:** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης στο Novolink™ Polymer Detection Systems. Για περισσότερες πληροφορίες για το προϊόν ή για υποστήριξη, επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems ή εναλλακτικά επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Η απόδοση του συγκεκριμένου αντισώματος θα πρέπει να επικυρωθεί όταν χρησιμοποιηθεί μαζί με άλλα μη αυτόματα συστήματα χρώσης ή αυτοαυτοποιημένες πλατφόρμες.

## Φύλαξη Και Σταθερότητα

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Μην καταψύχετε. Επαναφέρετε στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από το χρήστη.

## Παρασκευή Δείγματος

Το συνιστώμενο μονιμοποιητικό είναι ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης 10% για τομές ιστού εγκλεισμένες σε παραφίνη.

## Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

Το αντιδραστήριο αυτό έχει παρασκευαστεί από το υπερκείμενο κυτταροκαλλιέργειας. Επειδή είναι βιολογικό προϊόν, θα πρέπει να γίνεται εύλογη προσοχή κατά το χειρισμό του.

Αυτό το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου. Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού διατίθεται κατόπιν αιτήματος ή από τη διεύθυνση [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.

Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετάδοσης λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις. Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπίετα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.



Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης. Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοιες μεταβολές πρέπει να επικυρώνονται από το χρήστη.

## Ποιοτικός Έλεγχος

Τυχόν διαφορές στην επεξεργασία των ιστών και τις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική μεταβλητότητα στα αποτελέσματα, καθιστώντας αναγκαία την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων επιπλέον των ακόλουθων διαδικασιών.

Οι μάρτυρες θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα νεκροψιάς/βιοψιάς/χειρουργικά δείγματα, τα οποία είναι μονιμοποιημένα σε φορμόλη, επεξεργασμένα και εγκλεισμένα σε κηρό παραφίνης, το συντομότερο δυνατό με τον ίδιο τρόπο με το(α) δείγμα(τα) του ασθενούς.

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

Χρησιμοποιείται για να υποδεικνύει σωστά παρασκευασμένους ιστούς και σωστές τεχνικές χρώσης.

Θα πρέπει να περιλαμβάνεται ένας θετικός μάρτυρας ιστού για κάθε σύνολο συνθηκών εξέτασης σε κάθε εκτέλεση χρώσης.

Ένας ιστός με ασθενή θετική χρώση είναι πιο κατάλληλος από έναν ιστό με ισχυρή θετική χρώση για βέλτιστο έλεγχο ποιότητας και για την ανίχνευση τοπικών μικρών επιπέδων τυχόν αποδόμησης των αντιδραστηρίων.<sup>2</sup>

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι το ενδομήτριο.

Εάν ο θετικός μάρτυρας ιστού δεν παρουσιάζει θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα της εξέτασης θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επίσημης της ανιχνύου-στόχου από το πρωτοπαγές αντισώμα.

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι η αμυγδαλή.

Εναλλακτικά, η ποικιλία διαφόρων κυτταρικών τύπων που υπάρχουν στις περισσότερες τομές ιστών παρέχει συχνά θέσεις αρνητικού μάρτυρα, αλλά αυτό πρέπει να επαληθεύεται από το χρήστη.

Μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Ενδέχεται επίσης να παρατηρηθεί αποραδική χρώση του συνδετικού ιστού σε τομές από ιστούς που έχουν μονιμοποιηθεί με υπερβολική ποσότητα φορμόλης. Χρησιμοποιείτε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης. Νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα παρουσιάζουν συχνά μη ειδική χρώση.<sup>3</sup> Ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης των πρωτεϊνών ή των προϊόντων αντίδρασης του υποστρώματος. Ενδέχεται επίσης να προκληθούν από ενδογενή ένζυμα, όπως η ψευδοπυροεξιδάση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπεροξειδάση (κυτόχρωμα C) ή η ενδογενής βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο ανοσοχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμευσης των ενζύμων από ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστού ασθενών με χρωμογόνο υποστρώματος ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα. Εάν παρουσιαστεί ειδική χρώση στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενούς θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστήριου

Χρησιμοποιείτε έναν μη ειδικό αρνητικό μάρτυρα αντιδραστήριου αντί του πρωτοπαγούς αντισώματος με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς για την αξιολόγηση μη ειδικής χρώσης και για να επιτρέπει καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του ανιχνύου.

## Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-ER-6F11/2. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το ανιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το ανιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί Ιστοί

Ο κλώνος 6F11 ανιχνεύει το ανιγόνο του άμφα υποδοχέα ιστρογόνου (ER) στους πυρήνες των κυττάρων που εμφανίζουν υψηλά επίπεδα έκφρασης ER, μεταξύ των οποίων ένα τμήμα των κυττάρων του ενδομητρίου, των ωοθηκών και του μυομητρίου, καθώς και των πορογενών κυττάρων του φυσιολογικού μαστού. Μπορεί επίσης να παρατηρηθεί χρώση και στη βλεννογόνο της αμυγδαλής, καθώς και σε ένα τμήμα λεμφοειδών κυττάρων βλαστικού κέντρου (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών δειγμάτων που αξιολογήθηκαν =136).

### Καρκινικοί Ιστοί

Ο κλώνος 6F11 χρωμάτισε 137/222 όγκους προς αξιολόγηση, στους οποίους περιλαμβάνονταν όγκοι του μαστού (131/180), θηλώδη καρκινώματα του θυρεοειδούς (3/4), όγκοι των ωοθηκών (2/4), μεταξύ των οποίων 1/2 κυσταδενοκαρκινώματα και 1/4 διαινοκυτταρικά καρκινώματα), μεταστατικοί όγκοι αγγύστου προέλευσης (1/2), όγκοι του πνεύμονα (0/4), όγκοι του ήπατος (0/4), όγκοι του εγκέφαλου (0/2), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του οισοφάγου (0/2), αδενοκαρκινώματα του στομάχου (0/2), όγκοι μαλακών μορίων (0/2), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων της γλώσσας (0/2), νεφροκυτταρικά καρκινώματα (0/2), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του τραχήλου (0/2), σεμινώματα των όρχεων (0/2), αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου (0/2), αδενοκαρκινώματα του νεφρού (0/2), όγκοι του δέρματος (0/2), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του λάρυγγα (0/1) και άτυποι καρκινώδεις όγκοι του θύμου αδένος (0/1). (Συνολικός αριθμός όγκων που αξιολογήθηκαν = 222).

**Το NCL-L-ER-6F11/2 συνιστάται για τον προσδιορισμό της κατάστασης του α-υποδοχέα των ιστρογόνων του καρκινικού ιστού του μαστού.**

## Γενικοί Περιορισμοί

Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια διαγνωστική διεργασία πολλαπλών βημάτων, η οποία απαιτείται από ειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, επιλογή ιστού, μονιμοποίηση και επεξεργασία, προετοιμασία της πλάκας IHC και ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης.

Η χρώση του ιστού εξαρτάται από το χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Τυχόν εσφαλμένη μονιμοποίηση, κατάμειξη, απόψυξη, πλύση, στέγνωμα, θέρμανση, τομή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά ενδέχεται να παράγει μορφώματα, παγίδευση αντισώματος ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τυχόν ασυνεπή αποτελέσματα ενδέχεται να οφείλονται σε παραλλαγές των μεθόδων μονιμοποίησης και εγκλεισμού ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.<sup>4</sup>

Τυχόν υπερβολική ή ατελής αντίχρωση ενδέχεται να διακυβεύσει τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν άσπαστους μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Τα αντι σώματα που παρέχονται από την Leica Biosystems Newcastle Ltd προορίζονται για χρήση, όπως υποδεικνύεται, είτε σε κατεψυγμένες είτε σε εγκλεισμένες σε παραφίνη τομές, με ειδικές απαιτήσεις μονιμοποίησης. Ενδέχεται να παρουσιαστεί μη αναμενόμενη έκφραση αντιγόνου, ειδικά σε νεοπλασμάτα. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρωματισμένης τομής ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων μαρτύρων.

## Βιβλιογραφία - Γενική

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. Journal of Pathology 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28), 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. International Journal of Cancer 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. American Journal of Pathology 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired estrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. Journal of Pathology 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. Domestic Animal Endocrinology 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. European Journal of Cancer 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. Journal of Clinical Pathology 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. Histopathology 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. Journal of Clinical Oncology 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor-α Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. American Journal of Pathology 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. Journal of Pathology 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. Modern Pathology 1998; 11(4):357-363.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Συστάσεις Για Τη Χρήση, Αναμενόμενα Αποτελέσματα, Βιβλιογραφία - Γενική.

## Ημερομηνία Έκδοσης

03 Σεπτεμβρίου 2019

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof

## Estrogen Receptor

### Produktkode: NCL-L-ER-6F11/2

#### Tilsligtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-ER-6F11/2 er beregnet til kvalitativ identifikation af Estrogen Receptor-molekyler i paraffinsnit ved lysmikroskopi. Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

#### Procedureprincip

Immunhistokemiske (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel tilsætning af et specifikt antistof mod antigenet (primært antistof), et sekundært antistof mod det primære antistof og et enzym kompleksbundet til et kromogent substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Prøven kan derefter kontrastfarves og dækkes med et dækglas. Resultaterne fortolkes ved anvendelse af et lysmikroskop og medvirker til differential diagnose af patofysiologiske processer, som muligvis kan være associeret med et bestemt antigen.

#### Klon

6F11

#### Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein svarende til fuld længde alphaform af det humane østrogenreceptormolekyle.

#### Specifitet

Human østrogenreceptor.

#### Reagenssammensætning

NCL-L-ER-6F11/2 er en flydende vævskultursupernatant indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totalproteinkoncentration Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

#### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 67,5 mg/L som bestemt ved ELISA. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

#### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Varmeinduceret epitopgenfinding (HIER):** Følg venligst vejledningen i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslået fortynding:** 1:50 ved 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjer er vejledende, og brugeren bør selv bestemme egne optimale brugsopløsninger.

**Visualisering:** Følg venligst vejledningen i Novolink™ Polymer Detection Systems. Yderligere produktinformation og support fås ved henvendelse til lokal forhandler eller Leica Biosystems regionskontor - samt på vores hjemmeside: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)  
Dette antistofs funktion bør valideres, når det anvendes med andre manuelle farvningssystemer eller automatiserede platforme.

#### Opbevaring Og Holdbarhed

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Sættes tilbage til 2–8 °C umiddelbart efter brug. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen angivet på hætteflaskens etikette. Andre opbevaringsbetingelser end de ovenfor angivne skal verificeres af brugeren.

#### Prøveklargøring

Det anbefalede fiksativ er 10% neutralbufferjusteret formalin til paraffinindstøbe vævssnit.

#### Advarsler Og Forholdsregler

Dette reagens er fremstillet ud fra supernatanten af en cellekultur. Da det er et biologisk produkt, skal der tages fornuftige sikkerhedsforanstaltninger ved dets håndtering.

Denne reagens indeholder natriumazid. Et datablad for materialesikkerhed kan fås efter anmodning eller er tilgængeligt på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Konsulter landsdækkende og lokale love og regler vedrørende bortskaffelse af alle potentielt toksiske komponenter.

Prøver skal før og efter fiksering, lige som alle materialer eksponeret mod prøverne, håndteres som potentielt smittefarlige og bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler<sup>1</sup>. Pipetter aldrig reagenser med munden og undgå, at reagenser og prøver kommer i kontakt med huden eller slimhinder. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles efter med rigelige mængder vand. Søg læge.

Minimer mikrobiel kontaminering af reagenserne, da der ellers kan forekomme øget uspecifik farvning.

Inkubationstider eller -temperaturer andre end de specificerede kan give fejlagtige resultater. Alle sådanne ændringer skal valideres af brugeren.

## Kvalitetskontrol

Forskelle i behandlingen af væv og forskelle i tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan frembringe betydeligt varierende resultater og nødvendiggøre regelmæssig udførelse af kontroller på stedet ud over nedenstående procedurer.

Kontrollerne skal være friske autopsier/biopsier/kirurgiske prøver fikseret i formalin og behandlet og indstøbt i paraffin så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøver.

## Positiv Vævskontrol

Anvendes til påvisning af, at vævet er fremstillet korrekt, og at der er anvendt korrekte farvningssteknikker.

Der bør inkluderes en positiv vævskontrol for hvert sæt testbetingelser i hver farvekørsel.

Svagt positivt farvet væv er mere egnet end kraftigt positivt farvet væv til optimal kvalitetskontrol og påvisning af små niveauer af reagensnedbrydning.<sup>2</sup>

Anbefalet positivt kontrolvæv er livmoderslimhinde.

Hvis den positive vævskontrol ikke udviser positiv farvning, skal resultater af testprøverne kasseres.

## Negativ Vævskontrol

Skal undersøges efter den positive vævskontrol for at sikre, at det primære antistof mærker målantigenet specifikt.

Det anbefalede negative kontrolvæv er tonsil.

Alternativt frembyder de mange forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, ofte negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren.

Uspecifik farvning har, hvis til stede, ofte et diffus udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan ligeledes observeres i vævssnit af væv, der er fikseret for kraftigt i formalin. Anvend intakte celler til fortolkning af farvningsresultaterne. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte mere uspecifikt.<sup>3</sup> Der kan eventuelt ses falske positive resultater, der skyldes non-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. Dette kan ligeledes skyldes endogene enzymer, såsom pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroxidase (cytochrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarve. For at differentiere mellem endogen enzymaktivitet eller uspecifik enzymbinding og specifik immunreaktivitet kan yderligere patientvæv eventuelt farves udelukkende med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, mærket polymer) og substratkromogen. Hvis der optræder specifik farvning i den negative vævskontrol, skal resultaterne af patientprøverne kasseres.

## Negativ Reagenskontrol

Anvend en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof på et vævssnit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og muligvis bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet.

## Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-ER-6F11/2 sidst. Intensiteten af positiv farvning bør vurderes i sammenhæng med eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist. Ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Om nødvendigt anvendes et panel af antistoffer til identifikation af falske negative reaktioner.

## Forventede Resultater

### Normalt væv

Klon 6F11 påviser østrogenreceptor (ER) alfa-antigenet i cellekernerne, der giver udtryk for høje ER-niveauer, inklusive en andel af endometrielle, ovariale og myometrielle celler samt normale duktale celler fra brystet. Farvning kan også ses i tonsilslimhinden og en del af kimcenterets lymfoceller. (Samlet antal evaluerede normale tilfælde = 136).

### Tumorvæv

Klon 6F11 farvede 137/222 evaluerede tumorer, inklusive brysttumorer (131/180), papillære thyroideakarcinomer (3/4), ovariale tumorer (2/4, inklusive 1/2 cystadenokarcinomer og 1/1 klare cellekarcinomer), metastatiske tumorer af ukendt oprindelse (1/2), lungetumorer (0/4), levertumorer (0/4), hjernetumorer (0/2), pladecellekarcinomer i øsofagus (0/2), maveadenokarcinomer (0/2), blodvævstumorer (0/2), pladecellekarcinomer i tungen (0/2), nyreccellekarcinomer (0/2), pladecellekarcinomer i livmoderhalsen (0/2), testikelseminomer (0/2), tyktarmsadenokarcinomer (0/2), rektale adenokarcinomer (0/2), hudtumorer (0/2), pladecellekarcinomer i larynx (0/1) og atypiske karcinoid tumorer i thymus (0/1). (Samlet antal evaluerede tumortilfælde = 222).

### **NCL-L-ER-6F11/2 anbefales til bestemmelse af østrogenreceptorens alfastatus i brystcancer**

## Generelle Begrænsninger

Immunhistokemi er en diagnostisk proces bestående af mange trin, der omfatter specialiseret uddannelse i valg af passende reagenser, vævsselektion, -fiksering og -behandling samt fremstilling af IHC-objektglas og fortolkning af farvningsresultaterne.

Vævsfarvning er afhængig af håndteringen og behandlingen af vævet inden farvning. Forkert fiksering, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andet væv eller andre væsker kan frembringe artefakter, indfangning af antistof eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indstøbningsmetoder eller irregulart indeholdt i vævet.<sup>4</sup>

For kraftig eller ukomplet kontrastfarvning kan gøre korrekt fortolkning af resultaterne vanskelig.

Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er som angivet beregnet til anvendelse på enten frosne eller paraffinindstøbte vævssnit med specifikke krav til fiksering. Der kan forekomme uventet antigenekspresion, navnlig i neoplasmer. Den kliniske fortolkning af alle farvede vævssnit skal indbefatte morfologisk analyse og evaluering af passende kontroller.

## Bibliografi - Generelt

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Rettelser Til Tidligere Udgave

Anbefalingen Vedrørende Anvendelse, Forventede Resultater, Bibliografi - Generelt.

## Udgivelsesdato

03 september 2019

# Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muisantilichaam

## Estrogen Receptor

### Productcode: NCL-L-ER-6F11/2

#### Beoogd gebruik

Voor gebruik bij diagnose *in vitro*.

NCL-L-ER-6F11/2 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie van oestrogenreceptormoleculen in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

#### Principe van de procedure

Immunohistochemische (IHC) kleuringstechnieken maken het mogelijk om antigenen te visualiseren via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam op het antigeen (primaïr antilichaam), een secundair antilichaam op het primaire antilichaam en een enzymcomplex met een chromogeen substraat met ingevoegde wasstappen. De enzymatische activering van het chromogeen resulteert in een zichtbaar reactieproduct op de antigeenplaats. Het monster kan dan worden tegengekleurd en met een dekglasje worden bedekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lichtmicroscopie en helpen bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die al dan niet met een bepaald antigeen kunnen worden geassocieerd.

#### Kloon

6F11

#### Immunogeen

Prokaryotisch recombinant eiwit dat overeenkomt met de 'full-length' alfa-vorm van het humane oestrogenreceptormolecuul.

#### Specificiteit

Humane oestrogenreceptor.

#### Reagenssamenstelling

NCL-L-ER-6F11/2 is een vloeibaar supernatant uit weefselweek met natriumazide als conserveermiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totale eiwitconcentratie

Total Protein

Zie het etiket van de flacon voor de totale eiwitconcentratie van de partij.

#### Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 67,5 mg/l zoals bepaald door ELISA. Zie het etiket van de flacon voor de totale Ig-concentratie van de partij.

#### Aanbevelingen voor het gebruik

Immunohistochemie op paraffinecoupes.

**Warmte-geïnduceerd epitoopherstel (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Volg de aanwijzingen voor gebruik in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Voorgestelde verdunning:** 1:50 gedurende 30 minuten bij 25 °C. Dit is een richtsnoer en gebruikers moeten zelf de voor hen optimale werkverdunning bepalen.

**Visualisatie:** Volg de instructies voor het gebruik in de Novolink™ Polymer Detection Systems. Voor verdere productinformatie of advies neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems of bezoek in plaats daarvan de LEICA Biosystems-website: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

[De prestaties van dit antilichaam moeten worden gevalideerd bij gebruik met andere handmatige kleuringssystemen of geautomatiseerde platformen.](#)

#### Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2–8 °C. Niet invriezen. Plaats het product direct na gebruik weer terug bij een temperatuur van 2-8 °C. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het etiket van de flacon staat. Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd.

#### Specimenpreparatie

Het aanbevolen fixeermiddel is 10% neutraal gebufferde formaline voor in paraffine ingebedde weefselcoupes.

#### Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Dit reagens is bereid uit het supernatant van celweek. Aangezien dit een biologisch product is, moet redelijke voorzichtigheid worden betracht bij het hanteren ervan.

Dit reagens bevat natriumazide. Er is een veiligheidsinformatieblad verkrijgbaar op verzoek of via [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor het afvoeren van potentieel giftige componenten.

Specimens, zowel voor als na de fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en met inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd.<sup>1</sup> Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd dat de huid en slijmvliezen in aanraking komen met reagentia en specimens. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, moet u deze wassen met een overvloedige hoeveelheid water. Raadpleeg een arts.

Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen. Andere incubatietijden of temperaturen dan hierin vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

## Kwaliteitscontrole

Verschillen in weefselbewerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen tot aanzienlijke variabiliteit in de resultaten leiden, waardoor het nodig is om regelmatig interne controles uit te voeren als aanvulling op de volgende procedures. Controles zijn verse autopsie-/biopsie-/chirurgische specimen die zo snel mogelijk en op dezelfde manier als het monster of de monsters van de patiënt zijn gefixeerd in formaline, bewerkt en ingebed in paraffinewas.

## Positieve weefselcontrole

Wordt gebruikt om aan te geven dat weefsels correct geprepareerd zijn en dat passende kleuringstechnieken zijn gebruikt.

Voor elke set testvoorwaarden in elke kleuringrun moet één positieve weefselcontrole worden opgenomen.

Voor optimale kwaliteitscontrole en detectie van lichte degeneratie van het reagens is een weefsel met zwakke positieve kleuring meer geschikt dan een weefsel met sterke positieve kleuring.<sup>2</sup>

Aanbevolen positief controleweefsel is baarmoederslijmvlies.

Als de positieve weefselcontrole geen positieve kleuring vertoont, moeten de resultaten die met testmonsters zijn verkregen als ongeldig worden beschouwd.

## Negatieve weefselcontrole

De negatieve weefselcontrole moet na de positieve weefselcontrole worden onderzocht om de specificiteit van de labeling van het doelantigeen door het primaire antilichaam te verifiëren.

Aanbevolen negatief controleweefsel is endotheelelementen van de tonsil.

Aan de andere kant levert de verscheidenheid aan diverse cellypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, vaak negatieve controlelocaties op, maar dit moet wel worden geverifieerd door de gebruiker.

Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, ziet er doorgaans diffuus uit. Een sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in coupes van overmatig in formaleine gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor het interpreteren van kleuringresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specifiek.<sup>3</sup> Fout-positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door endogene enzymen zoals pseudoperoxidase (erythrocyten), endogene peroxidase (cytochroom c) of endogene biotine (bv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring. Om activiteit van endogene enzymen of niet-specifieke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immunoreactiviteit, kunnen aanvullende patiëntweefsels worden gekleurd met respectievelijk uitsluitend substraatchromogeen of enzymcomplexen (avidine-biotine, streptavidine, gelabeld polymeer) en substraatchromogeen. Als er specifieke kleuring optreedt in de negatieve weefselcontrole, moeten resultaten met de patiëntmonsters als ongeldig worden beschouwd.

## Negatieve reagenscontrole

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole van het primaire antilichaam van een coupe van elk patiëntspecimen om niet-specifieke kleuring te evalueren en specifieke kleuring op de antigeenlocatie beter te kunnen interpreteren.

## Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-ER-6F11/2 zijn gekleurd als laatste. De intensiteit van de positieve kleuring moet worden geëvalueerd binnen de context van

niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of het onderzochte weefsel. Gebruik zo nodig een panel antilichamen om fout-negatieve reacties te identificeren.

## Verwachte resultaten

### Normale weefsels

Kloon 6F11 detecteert het oestrogeenreceptor (ER) alfa-antigeen in de kernen van cellen die ER in hoge mate tot expressie brengen, inclusief een deel van de endometrium-, ovarium- en myometriumcellen, en normale melkgangcellen in de borst. Er kan ook kleuring worden waargenomen in tonsil mucosa in een deel van het kiemcentrum van lymfoïde cellen. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 136).

### Afwijkende weefsels

Kloon 6F11 kleurde 137/222 beoordeelde tumoren, waaronder borsttumoren(131/180), schildklier carcinoemen (3/4), eierstoktumoren (2/4, inclusief 1/2 cystadenocarcinomen en 1/1 'clear cell'-carcinomen), metastatische tumoren van onbekende oorsprong (1/2), longtumoren (0/4), levertumoren (0/4), hersentumoren (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de slokdarm (0/2), adenocarcinomen van de maag (0/2), tumoren in zacht weefsel (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de tong (0/2), niercelcarcinomen (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de cervix (0/2), testiculaire seminomen (0/2), colonadenocarcinomen (0/2), rectum-adenocarcinomen (0/2), huidtumoren (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de larynx (0/1) en atypische carcinoïde tumoren van de thymus (0/1). (Totaal aantal tumorgevallen dat werd geëvalueerd = 222.)

**NCL-L-ER-6F11/2 wordt aanbevolen voor het bepalen van de alfastatus van oestrogeenreceptoren van borstkankerweefsel.**

## Algemene beperkingen

Immunohistochemie (IHC) is een diagnostisch meerstapsproces waarvoor een gespecialiseerde opleiding nodig is in het kiezen van de juiste reagentia, het selecteren, fixeren en bewerken van weefsel, het prepareren van IHC-objectglasjes en het interpreteren van de kleuringresultaten.

Weefselkleuring is afhankelijk van de manier waarop het weefsel vóór de kleuring wordt behandeld en bewerkt. Verkeerd fixeren, invriezen, ontdooien, wassen, drogen, verwarmen, snijden of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan tot artefacten, insluiting van antilichamen of fout-negatieve resultaten leiden. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethodes, of aan intrinsieke onregelmatigheden in het weefsel.<sup>4</sup>

Een te sterke of onvolledige tegenkleuring kan een juiste interpretatie van de resultaten bemoeilijken of onmogelijk maken.



De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Antilichamen van Leica Biosystems Newcastle Ltd zijn bedoeld voor gebruik, zoals aangegeven, op bevroren of in paraffine ingebedde coupes die een specifieke fixatie vereisen. Er kan onverwachte antigenexpressie optreden, met name bij neoplasma's. De klinische interpretatie van gekleurde weefselcoupes moet een morfologische analyse en de evaluatie van overeenkomstige controles bevatten.

## Literatuurlijst – algemeen

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevtit DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667–672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khuruna KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Aanpassingen ten opzichte van de vorige uitgave

Aanbevelingen voor gebruik, Verwachte resultaten, Bibliografie - Algemeen.

## Datum uitgave

03 september 2019



# Novocastra™ Flytende murint monoklonalt antistoff

## Estrogen Receptor

### Produktkode: NCL-L-ER-6F11/2

#### Tiltent bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-ER-6F11/2 skal brukes til kvalitativ identifikasjon av humane østrogenreseptormolekyler i parafinsnitt ved lysmikroskopering. Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester.

#### Prinsipp for prosedyren

Teknikker for immunhistokjemisk (IHC) farging muliggjør visualisering av antigener via sekvensiell applikasjon av et spesifikt antistoff på antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff på det primære antistoffet og et enzymkompleks med et kromogent substrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Provmaterialet kan deretter kontrastfarges og påføres dekkglass. Resultatene tolkes ved hjelp av et lysmikroskop og bidrar til differensialdiagnosen for patofysiologiske prosesser, som kan være tilknyttet et spesielt antigen eller ikke.

#### Klon

6F11

#### Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein svarende til full lengde-alfaformen av det humane østrogenreseptormolekylet.

#### Spesifisitet

Human estrogen receptor.

#### Reagenssammensetning

NCL-L-ER-6F11/2 er en flytende vevskultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Total proteinkonsentrasjon

Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk totalproteinkonsentrasjon.

#### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 67,5 mg/l som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk Ig-konsentrasjon.

#### Anbefalinger for bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

**varmeindusert epitop demaskering (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Følg bruksanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslått fortynning:** 01:50 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun veiledende, og brukerne bør fastslå egne optimale fortynninger for sitt arbeid.

**Visualisering:** Følg bruksanvisningen for Novolink™ Polymer Detection Systems. Hvis du ønsker ytterligere produktinformasjon eller -støtte, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems' nettsted på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

[Ytelsen til dette antistoffet bør valideres når det brukes med andre systemer for manuell farging eller automatiserte plattformer.](#)

#### Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på etiketten på hetteglasset. Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor, må verifiseres av brukeren.

#### Prøveklargjøring

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralbufret formalin for parafininnstøpte vevsnett.

#### Advarsler og forholdsregler

Dette reagentet ble fremstilt fra supernatanten fra cellekultur. Ettersom det er et biologisk produkt, må det utvises rimelig forsiktighet når det håndteres.

Denne reagensen inneholder natriumazid. Et sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på forespørsel eller tilgjengelig fra [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Følg nasjonale og lokale forskrifter for avfallshåndtering av bestanddeler som kan være giftige.

Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som utsettes for dem, skal håndteres som smittefarlige og avhendes etter egnede forholdsregler.<sup>1</sup> Pipetter aldri reagenser via munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skyll med rikelige mengder vann. Kontakt lege.

Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging.

Andre inkuberingstider eller temperaturer enn de som er spesifisert, kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

## Kvalitetskontroll

Forskjeller i vevprosessering og tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan frembringe signifikant variasjon i resultatene og gjør det påkrevd med regelmessige interne ytelseskontroller i tillegg til følgende prosedyrer.

Kontroller skal være ferske prøver fra obduksjon/biopsi/kirurgi, som er formalinfiksert, behandlet og parafinvoksinntøpt så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e).

## Positivt kontrollvev

Brukes for å indikere riktig klargjorte vev og riktige fargingsteknikker.

Ett positivt kontrollvev bør inkluderes for hvert sett med testbetingelser i hver fargerunde.

Svakt positivt farget vev er mer egnet enn kraftig positivt farget vev til optimal kvalitetskontroll og påvisning av små nivåer reagensnedbrytning.<sup>2</sup>

Anbefalt positivt kontrollvev er fra endometrium.

Hvis den positive vevkontrollen ikke gir positiv farging, skal resultater med testprøvene betraktes som ugyldige.

## Negativt kontrollvev

Skal undersøkes etter det positive kontrollvevet for å verifisere spesifisiteten i merkingen av målantigenet med det primære antistoffet.

Anbefalt negativt kontrollvev er endoteliale elementer av tonsil.

Alternativt gir variasjonen av forskjellige celletyper som kan finnes i de fleste vevsniitt ofte rom for negativ kontroll, men dette må verifiseres av brukeren.

Uspesifikk farging, hvis dette forekommer, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev vil også kunne observeres i vevsniitt som er fiksert i for mye formalin. Bruk intakte celler til tolkning av fargingsresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikt.<sup>3</sup> Falske positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan også forårsakes av endogene enzymer slik som pseudoperoksidase (erytrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av type immunfarging som brukes. For å differensiere endogen enzymaktivitet eller ikke-spesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet kan ekstra pasientvev farges eksklusivt med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det forekommer spesifikk farging i de negative vevkontrollene, skal resultater med pasientprøvene betraktes som ugyldige.

## Negativ reagenskontroll

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med et snitt av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og gi bedre mulighet for tolkning av den spesifikke fargingen på antigenstedet.

## Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-ER-6F11/2 sist. Positiv fargingsintensitet skal vurderes i lys av eventuell ikke-spesifikk bakgrunnsfarging i den negative reagenskontrollen. På samme måte som for alle andre immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet ikke var til stede i cellene / det analyserte vevet. Om nødvendig, skal det brukes et antistoffpanel til å identifisere falske negative reaksjoner.

## Forventede resultater

### Normale vev

Klon 6F11 detekterer østrogenreseptor (ER)-alfaantigenet i kjernene av celler som uttrykker høye nivåer av ER, inkludert en del av endometri-, ovarie- og myometriske celler og normale brystkanalceller. Farging kan også ses i tonsil mucosa og en del av lymfoidcellene i germinalsentret. (Totalt antall normale tilfeller evaluert = 136).

### Unormale vev

Klon 6F11-farget 137/222 tumorer vurdert, inkludert brysttumorer (131/180), skjoldbrusk-papillære karsinomer (3/4), eggstokktumorer (2/4, inkludert 1/2 cystadenokarsinomer og 1/1 klarcellekarsinomer), metastaserende tumorer med ukjent opprinnelse (1/2), lungetumorer (0/4), levertumorer (0/4), hjernetumorer (0/2), skvamøse cellekarsinomer i spiserøret (0/2), mageadenokarsinomer (0/2), bløtvevtumorer (0/2), skvamøse cellekarsinomer i tungen (0/2), nyrecellekarsinomer (0/2), skvamøse cellekarsinomer i livmorhalsen (0/2), testikulære seminomer (0/2), kolonadenokarsinomer (0/2), rektale adenokarsinomer (0/2), hudtumorer (0/2), skvamøse cellekarsinomer i strupehodet (0/1) og atypiske karsinoide tumorer i tymusen (0/1). (Totalt antall evaluerte tumortilfeller = 222).

### NCL-L-ER-6F11/2 anbefales for å bestemme østrogenreseptor-alfastatus for brystkreftvev.

## Generelle begrensninger

Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som krever spesialisert opplæring i valg av egnede reagenser, valg, fiksering og behandling av vev, klargjøring av IHC-objektglass og tolkning av fargingsresultater.

Vevfargingen er avhengig av håndteringen og behandlingen av vevet før det farges. Uriktig fiksering, dyppfrysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, fangning av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstappingsmetoder eller uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup> Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan hindre riktig tolkning av resultater.

Den kliniske tolkningen av en farging eller ubleblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenheng av pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er til bruk, som indisert, på enten frosne eller parafininntøpte snitt med spesifikke fikseringskrav. Det kan forekomme uventet antigenuttrykk, spesielt i neoplasmer. Den kliniske tolkningen av ethvert farget vevsniitt må inkludere morfologisk analyse og evaluering av egnede kontroller.

## Bibliografi – generell

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Endringer på tidligere utgave

Anbefalinger for bruk. forventede resultater, bibliografi – generelt.

## Utstedelsesdato

03 september 2019

# Novocastra™ Likit Monoklonal Fare Antikoru

## Estrogen Receptor

### Ürün Kodu: NCL-L-ER-6F11/2

#### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanım içindir.

NCL-L-ER-6F11/2, parafin bölümlerindeki Östrojen Reseptörü moleküllerinin ışık mikroskopisi ile kalitatif tanımlanması için tasarlanmıştır. Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

#### Prosedür İkesi

İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, antijene ardışık olarak belirli bir antikoron uygulanması (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikoron uygulanması ve aralaradaki yıkama adımları ile, antijenlerin kromojenik substratlı bir enzim kompleksi yoluyla görselleştirilmesine olanak tanır. Kromojenin enzimle etkinleştirilmesi, antijen alanında gözle görülür bir tepkiye yol açar. Örnek daha sonra karşıt boyanabilir ve lamelle örtülebilir. Sonuçlar bir ışık mikroskopu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabileceği veya olmayabilecek patofizyolojik süreçlerin ayrıntı tanısına yardımcı olur.

#### Clone

6F11

#### İmmünojen

İnsan östrojen reseptör molekülünün tam uzunlukta alfa formuna karşılık gelen prokaryotik rekombinant protein.

#### Özgüllük

İnsan östrojen reseptörü.

#### Reaktif Bileşimi

NCL-L-ER-6F11/2, koruyucu olarak sodyum azit içeren süpernatant bir likit doku kültürüdür.

#### Ig Sınıfı

IgG1

#### Toplam Protein Konsantrasyonu Total Protein

Lota özgül toplam protein konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

#### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 67,5 mg/l'ye eşit veya bu değerden yüksek. Lota özgül Ig konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

#### Kullanım Önerileri

Parafin bölümlerinde immünohistokimya.

**Isı İndüktü Eritop Alımı (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Novocastra Eritop Retrieval Solution pH 6 içinde kullanım için lütfen talimatları takip edin.

**Önerilen dilüsyon:** 25 °C'de 30 dakika süreyle 1:50. Bu değer kılavuz olarak verilmiştir ve kullanıcılar kendileri için en uygun çalışma dilüsyonlarını kendileri belirlemelidir.

**Görselleştirme:** Lütfen Novolink™ Polymer Detection Systems'ın kullanım talimatlarını izleyin. Ürünle ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçebilirsiniz ya da bunun yerine Leica Biosystems Web sitesini ziyaret edebilirsiniz:

[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Bu antikorun performansı, diğer manuel boyama sistemleriyle veya otomatik platformlarla birlikte kullanıldığında doğrulanmalıdır.

#### Saklama ve Stabilite

2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullandıktan hemen sonra 2–8 °C'ye geri alın. Flakon etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenler dışında saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

#### Örnek Hazırlama

Önerilen fiksatif, parafine gömülmüş doku kesitleri için %10 nötr tamponlu formalindir.

#### Uyarılar ve Önlemler

Bu reaktif hücre kültürü süpernatantından hazırlanmıştır. Biyolojik bir ürün olduğundan, elleçleme sırasında makul düzeyde dikkatli olunmalıdır.

Bu reaktif sodyum azit içerir. Malzeme Güvenlik Bilgileri Formu, talep üzerine sağlanabilir ve [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) sitesinde mevcuttur.

Potansiyel olarak toksik bileşenlerin atılmasıyla ilgili yerel, ulusal veya bölgesel düzenlemeleri dikkate alın.

Fiksasyondan önce ve sonra örnekler ve onlara maruz kalmış bütün materyaller, enfeksiyon yayabilecekmiş gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak atılmalıdır.<sup>1</sup> Reaktifleri hiçbir zaman ağızla pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya örnekler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.

Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada bir artış meydana gelebilir. Belirtilenler dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kalite Kontrol

Kullanıcı laboratuvarında doku işleme ve teknik prosedürlerdeki farklılıklar sonuçlarda, aşağıdaki prosedürlere ek olarak kurum içi kontrollerin düzenli performansını gerektiren anlamlı değişkenliğe yol açabilir.

Kontroller, hasta numunesinde/numunelerinde yapıldığı gibi mümkün olan en kısa sürede dondurulan formalinle fikse edilmiş, parafin mumuna gömülmüş, taze otopsi numuneleri/biyopsi numuneleri/cerrahi örnekler olmalıdır.

## Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve uygun boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

Her boyama döngüsünde her test koşulu setine bir pozitif doku kontrolü dahil edilmelidir.

Zayıf pozitif boyama yapılmış doku, optimal kalite kontrolü ve minör reaktif bozunma düzeylerini saptamak için güçlü pozitif boyama yapılmış dokudan daha uygundur.<sup>2</sup>

Önerilen pozitif kontrol dokusu endometriyumdur.

Pozitif doku kontrolü pozitif boyama göstermezse test örneklerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

## Negatif Doku Kontrolü

Primer antikör tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin spesifikliğini doğrulamak için, pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Önerilen negatif kontrol bademciğin endotelial ögeleridir.

Alternatif olarak, doku kesitlerinin çoğunda bulunan farklı hücre tipi çeşitleri sıklıkla negatif kontrol bölgeleri sunar ancak bu kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Olduğu durumda, spesifik olmayan boyamanın görünümü genelde diffüzdür. Aşırı formalin fiksasyonlu dokulardan kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da görülebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanın. Nekrotik ve dejenere hücreler genellikle nonspesifik boyanır.<sup>3</sup> Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünohistokimyasal bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Bu sonuçlar ayrıca, kullanılan immün-boyaya bağlı olarak psödoeperoksidaz (eritrositler), endojen peroksidaz

(sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimlerden de kaynaklanabilir. Endojen enzim aktivitesini veya nonspesifik enzim bağlanmasını spesifik immünoreaktiveden ayırmak için ek hasta dokuları sırasıyla sadece substrat kromojen veya enzim kompleksleri (avidin-biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyanma olursa hasta örneklerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

## Negatif Reaktif Kontrolü

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek ve antijen bölgesinde spesifik boyanmayı daha iyi yorumlayabilmek için her hasta örneği kesitinde primer antikör yerine

spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın.

## Hasta Dokusu

NCL-L-ER-6F11/2 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan herhangi bir arka plan boyanması bağlamında değerlendirilmelidir. Her immünohistokimyasal teste olduğu gibi negatif bir sonuç antijenin saptanmadığı anlamına gelir, antijenin miktar tayinine tabi tutulan hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez. Gerekirse yanlış spesifikasyonların belirlenmesi için antikör paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Klon 6F11, endometriyal, overyen ve miyometrial hücrelerin bir bölümü ve normal meme duktal hücreleri dahil olmak üzere, yüksek düzeylerde ER'yi ekspresye eden hücrelerin çekirdeklerindeki östrojen reseptörü (ER) alfa antijenini tespit eder. Bademcik mukozasında ve germinal merkez lenfoid hücrelerin bir kısmında da boyama görülebilir. (Değerlendirilen toplam vaka sayısı = 136).

### Anormal Dokular

Klon 6F11 meme tümörleri (131/180), tiroid papiller karsinomlar (3/4), overyen tümörleri (1/2 kistadenokarsinom ve 1/1 berrak hücre karsinomu dahil olmak üzere 2/4), kökeni bilinmeyen metastatik tümörler (1/2), akciğer tümörleri (0/4), karaciğer tümörleri (0/4), beyin tümörleri (0/2), özofagus skuamöz hücre karsinomları (0/2), mide adenokarsinomları (0/2), yumuşak doku tümörleri (0/2), dildeki skuamöz hücre karsinomları (0/2), renal hücre karsinomları (0/2), serviksteki skuamöz hücre karsinomları (0/2), testiküler seminomlar (0/2), kolon adenokarsinomları (0/2), rektal adenokarsinomlar (0/2), cilt tümörleri (0/2), larinkste skuamöz hücre karsinomları (0/1) ve timustaki atipik karsinoid tümörler (0/1) dahil olmak üzere değerlendirilen 137/222 tümörü boyamıştır. (Değerlendirilen toplam tümör vakası sayısı = 222).

**NCL-L-ER-6F11/2, meme kanseri dokularının östrojen reseptör alfa durumlarını belirlemek için önerilmektedir.**

## General Sınırlamalar

İmmünohistokimya; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi, IHC laminasının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması alanlarında özel eğitimden oluşan, çok adımlı bir diyagnostik süreçtir.

Doku boyama, boyama öncesinde dokunun kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvıların kontaminasyonu artefaktlara, antikör tutulmasına veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki değişikliklerle ilgili olarak da dokunun yapısından kaynaklanan düzensizliklerden kaynaklanabilir.<sup>4</sup>

Aşırı ya da tam olmayan karşı boyama, sonuçların düzgün yorumlanmasını olumsuz etkileyebilir.

Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd'in antikörleri, belirtilen şekilde, özel fiksasyon gereklilikleriyle parafine gömülmüş veya dondurulmuş kesitler üzerinde kullanılır. Özellikle neoplazmlarda beklenmeyen antijen ekspresyonu oluşabilir. Boyanmış herhangi bir doku kesitinin klinik yorumu, morfolojik analizi ve uygun kontrollerin değerlendirilmesini içermelidir.

## Kaynakça - Genel

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Önceki Sayıya Göre Değişiklikler

Kullanım Önerileri, Öngörülen Sonuçlar, Bibliyografya - Genel.

## Yayın Tarihi

03 Eylül 2019

# Течно мише моноклонално антитяло Novocastra™ Estrogen Receptor

## Код на продукта: NCL-L-ER-6F11/2

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-ER-6F11/2 е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на молекули естроген рецептор в парафинови срези. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

### Принцип на процедурата

Техниките на имунохистохимия (ИHC) оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно приложение на специфично антитяло на антигена (първично антитяло), вторично антитяло на първичното антитяло и ензимен комплекс с хромогенен субстрат, с междинни стъпки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това може да се направи контраоцветяване на слесимена и да се постави покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с използване на оптичен микроскоп и са в помощ при диференциалната диагностика на патологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

### Клонинг

6F11

### Имуноген

Прокариотен рекомбинантен протеин, съответстващ на алфа-форма с пълна дължина на молекулата човешки естроген рецептор.

### Специфичност

Човешки естроген рецептор.

### Състав на реагента

NCL-L-ER-6F11/2 е течен супернатант от тъканна култура, съдържащ натриев азид като консервант.

### Имуноглобулинов клас

IgG1

### Концентрация на общ протеин

Total Protein

Вижте етикета на флакона относно специфичната за партидата концентрация на общ протеин.

### Концентрация на антитела

По-висока или равна на 67,5 mg/L, както е определено от ELISA. Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата концентрация на имуноглобулин.

### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

**Термично индуцирано извличане на епитон (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Моля, спазвайте инструкциите за употреба, включени в опаковката на Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Предложение за разреждане:** 1:50 за 30 минути при 25°C. Това е дадено като указание, като потребителите трябва сами да определят техни собствени оптимални работни разреждания.

**Визуализация:** Спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novolink™ Polymer Detection Systems. За допълнителна информация за продукта или помощ се свържете с вашия местен дистрибутор или с регионалния офис на Leica Biosystems, а също така може да посетите уебсайта на Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Действието на това антитяло трябва да бъде валидирано при употреба с други мануални системи за оцветяване или автоматизирани платформи.

### Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8°C. Да не се замразява. Да се върне на температура 2 – 8°C веднага след употреба. Да не се използва след срока на годност, отбелязан върху етикета на флакона. Други условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя.

### Подготовка на спесимени

Препоръчителният фиксиращ разтвор е неутрален буфериран формалин 10% за тъканни срези, вградени в парафин.

### Предупреждения и предпазни мерки

Този реагент е приготвен от супернатант от клетъчна култура. Тъй като е биологичен продукт, необходимо е повишено внимание при работа с него.

Този реагент съдържа натриев азид. Информационният лист за безопасност на материалите е наличен при запитване или от [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.

Всички спесимени преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тях, трябва да се третира като възможни

преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.<sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ. Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване. Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

### Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да доведат до значително вариране на резултатите, налагащо редовно извършване на вътрешен контрол в допълнение към следните процедури.

Контролите трябва да са свежи спесимени, взети по време на аутопсия/биопсия/операция, фиксирани във формалин, обработени и вградени в парафинов восък, възможно най-бързо, по същия начин като проба(та) на пациента(ите).

### Позитивна тъканна контрола

Използва се, за да се покажат правилно приготвени тъкани и правилни техники на оцветяване.

Една позитивна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тестови условия при всяка серия проби за оцветяване. Тъкан със слабо позитивно оцветяване е по-подходяща от тъкан със силно позитивно оцветяване за оптимален качествен контрол и за откриване на по-малки нива на деградация на реагента.<sup>2</sup>

Препоръчителната тъкан за позитивна контрола е ендометриум.

Ако позитивна тъканна контрола не показва позитивно оцветяване, резултатите от спесимените, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

### Негативна тъканна контрола

Трябва да се изследва след позитивната тъканна контрола, за да се провери специфичността на беляването на таргетния антиген от първичното антияло.

Препоръчителната тъкан за негативна контрола са ендотелни елементи на сливица.

Алтернативно, разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъканни срези, често предлага места за негативна контрола, но това трябва да се провери от потребителя.

Неспецифичното оцветяване, ако присъства, обикновено е дифузно на вид. Спорадично оцветяване на съединителна тъкан може да се наблюдава и в части от прекомерно фиксирани във формалин тъкани. Използвайте интактни клетки за интерпретация на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенериралите клетки често се оцветяват неспецифично.<sup>3</sup>

Може да се видят неверни позитивни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата. Те може да са причинени и от ендогенни ензими, като например псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване. За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имуна реактивност ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или с ензимни комплекси (авидин-биотин, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в негативната тъканна контрола, резултатите от спесимените на пациентите трябва да се считат за невалидни.

### Негативна контрола на реагента

Използвайте неспецифична негативна контрола на реагента, вместо първичното антияло, със срез от всеки спесимен на пациента, за да се направи оценка на неспецифичното оцветяване и да се даде по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на мястото на антигена.

### Тъкан от пациента

Спесимените на пациентите, оцветени с NCL-L-ER-6F11/2, трябва да се изследват последни. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализиранияте клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антитела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

### Очаквани резултати

#### Нормални тъкани

Клонинг 6F11 открива антигена на естроген рецептор (ER) алфа в ядрата на клетки с експресия на високи нива на ER, включително част от клетките на ендометриума, яйчниците и миоетриума и нормалните дуктални клетки на гърдата. Оцветяване може да се забележи също в мукозата на сливицата и част от лимфоидните клетки на зароднишните центрове. (Общ брой на оценените нормални случаи = 136).

#### Абнормни тъкани

Клонинг 6F11 оцветява 137/222 оценени тумора, включително тумори на гърдата (131/180), папиларни карциноми на щитовидната жлеза (3/4), овариални тумори (2/4, включително 1/2 цистаденокарцинома и 1/1 светлоклетъчен карцином), метастатични тумори с неизвестен произход (1/2), беподробни тумори (0/4), чернодробни тумори (0/4), мозъчни тумори (0/2), плоскоклетъчни карциноми на хранопровода (0/2), стомашни аденокарциноми (0/2), тумори на меките тъкани (0/2), плоскоклетъчни карциноми на езика (0/2), карциноми на бърбечните клетки (0/2), плоскоклетъчни карциноми на цервикса (0/2), семиноми на тестисите (0/2), аденокарциноми на ободното черво (0/2), ректални аденокарциноми (0/2), кожни тумори (0/2), плоскоклетъчни карциноми на ларинкса (0/1) и атипичен карциноиден тумор на тимуса (0/1). (Общ брой на оценените случаи на тумор = 222).

**Продуктът NCL-L-ER-6F11/2 се препоръчва за определяне на състоянието на естроген рецептор алфа в ракови тъкани от гърдата.**

### Общи ограничения

Имунохистохимията е многостъпков диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи реагенти, избор на тъкани, фиксация и обработка, подготовка на предметното стъкло за имунохистохимия и интерпретация на резултатите от оцветяването.



Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, сръзване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини поява на артефакти, блокиране на антителата или фалшиво негативни резултати. Несъответстващите резултати може да се дължат на вариации в методите на фиксация и вграждане или на присъща нерегулярност в тъканта.<sup>4</sup> Прекомерното или негъпно контраоцветяване може да попречи на правилната интерпретация на резултатите. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог. Антителата от Leica Biosystems Newcast Ltd са предназначени за употреба, както е указано, върху замразени или вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценката на подходящи контроли.

## Библиография – основна

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor-α Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Изменения на предишно издание

Препоръки за употреба, Очаквани резултати, Библиография – основна.

## Дата на издаване

03 Септември 2019

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest

## Estrogen Receptor

**Termékkód: NCL-L-ER-6F11/2**

### Alkalmazási terület

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-ER-6F11/2 az ösztrogén receptor molekulák fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés megértéséhez szükséges a festés morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

### Az eljárás elve

Az immunhisztokémiai (immunohistochemical, IHC) megfestési technikák az antigén elleni specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest elleni másodlagos antitest és egy enzim kromogén szubsztrátból alkotott komplexének egymás után következő alkalmazásán keresztül, közébeiktott mosási lépések mellett lehetővé teszik az antigének megjelenítését. A kromogén enzimaktiválása látható reakcióterméket eredményez az antigén helyén. Ezután a minta kontrasztfesthető és lefedhető. Az eredmények fénymikroszkóp használatával értelmezhetők, majd segítségül használhatók a patofiziológias folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok az esetek egy részében konkrét antigénhez kapcsolódnak.

### Klón

6F11

### Immunogén

A humán ösztrogén receptor molekula teljes hosszúságú alfa formájának megfelelő prokarióta eredetű rekombináns fehérje.

### Specifitás

Humán ösztrogén receptor.

### A reagens összetétele

Az NCL-L-ER-6F11/2 egy tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

### Ig-osztály

IgG1

### Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

### Antitest-koncentráció

Legalább 67,5 mg/l, ELISA módszerrel meghatározva. A sarzsspecifikus Ig-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

### Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémia paraffinos metszeteken.

**Hőindukált epitópfeltárás (heat induced epitope retrieval, HIER):** Kövesse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 termék használati útmutatóját.

**Javasolt hígítás:** 1:50, 30 percen át, 25 °C-on. Az adatok csak útmutatásul szolgálnak, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkaadataikat.

**Megjelenítés:** Kövesse a Novolink™ Polymer Detection Systems rendszerek használati útmutatóját. További termékinformációkért vagy támogatásért forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

Az antitest teljesítményét validálni kell, ha azt más manuális festési rendszerrel vagy automata platformmal használja.

### Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos lefagyasztani. Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre. Ne használja az üveg címkéjén feltüntetett lejárati dátum után. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell.

### A minták előkészítése

A javasolt fixálószer a paraffinban ágyazott szövetmetszeteknél 10%-os, semleges pufferolású formalin.

### Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejtkultúra felülúszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor ésszerű körültekintéssel kell eljárni.

Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági adatlap kérésre rendelkezésre áll, vagy letölthető a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) oldalról.

Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.

A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani.<sup>1</sup> Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.

Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.

A megadottaktól eltérő inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

## Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában alkalmazott szövETFeldolgozási és technikai eljárások eltérései jelentős különbséget okozhatnak az eredményekben, ami az alábbi eljárásokon túl belső kontroll rendszeres futtatását teszi szükségessé.

Kontrollként friss boncolási/biopsziás/sébészeti mintákat kell használni, amelyeket a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formalinban fixálni, feldolgozni és paraffiniaszba ágyazni.

## Pozitív szövETkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

Minden tesztelési körülménygyűtes esetében és minden megfestési sorozatban kell alkalmazni egy pozitív szövETkontrollt.

A gyengén pozitív festődésű szövet alkalmasabb az erősebben pozitív festődésű szövetnél az optimális minőség-ellenőrzéshez, valamint a kismértékű reagensbomlás észleléséhez.<sup>2</sup>

A javasolt pozitív kontrollszövet az endometrium.

Ha a pozitív szövETkontroll nem mutat pozitív festődést, a vizsgált minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív szövETkontroll

A pozitív szövETkontroll után azért kell megvizsgálni, hogy a vizsgált antigén elsődleges antitest segítségével történő jelölésének specificitását ellenőrizni lehessen.

A javasolt negatív kontrollszövet a tonsilla endotél elemei.

Ezenkívül a legtöbb szövETmetszetben jelen lévő különböző sejttípusok gyakran használhatók negatív kontrollként, de ezeket a felhasználónak kell ellenőriznie.

Ha van nem specifikus festődés, az rendszerint diffúz megjelenésű. A formalinban túlfixált szövETekből származó metszeteknél a kötőszövet szórányos festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejteket használjon. A nekrotizált vagy degenerálódtó sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> A fehérjék vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Az alkalmazott immunfestés típusától függően álpozitív eredményeket okozhatnak olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (vörösréseitek), endogén peroxidáz (citokróm C), illetve endogén biotin (pl. máj, emlő, agy, vese). Az endogén enzim aktivitásának vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimkomplexekkel (avidin-biotin, sztreptavidin, jelölt polimer) és szubsztrát–kromogénnel. Ha a negatív szövETkontroll specifikus festődést mutat, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív reagenskontroll

A nem specifikus festődés kiértékeléséhez és az antigén helyén létrejövő specifikus festődés jobb értelmezéséhez minden betegminta esetén egy metszeten alkalmazzon az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt.

## Betegszövet

Az NCL-L-ER-6F11/2 reagenssel festett betegmintákat vizsgálja meg utolsóként. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagenskontroll esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje. Mint minden immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtekben/szövetben. Szükség esetén az álnegatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

## Várható eredmények

### Normál szövetek

A 6F11 klón kimutatja az ösztrogén receptor (ER) alfa antigént a magas szintű ER expressziót mutató sejtek, például az endometrium, a petefészek és a miometrium egyes sejteinek, valamint az emlő egészséges dukális sejteinek sejtmagjában. Festődés fordulhat elő a tonsilla nyálkahártyájában és a csiraközponti limfoid sejtek egy részében. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 136).

### Kóros szövetek

A 6F11 klón megfestett 137/222 értékelt daganatot, köztük 131/180 emlődaganatot, 3/4 papilláris pajzsmirigy-karcinómát, 2/4 petefészek-daganatot (beleértve 1/2 cisztadenokarcinómát és 1/1 világossejtes karcinómát), 1/2 ismeretlen eredetű áttétes daganatot, 0/4 tüdődaganatot, 0/4 májdaganatot, 0/2 agydaganatot, 0/2 laphámsejtes nyelődő-karcinómát, 0/2 gyomor-adenokarcinómát, 0/2 légyszövet-daganatot, 0/2 laphámsejtes nyelvkarcinómát, 0/2 vesesejtes karcinómát, 0/2 laphámsejtes méhnyaki karcinómát, 0/2 hereszeminómát, 0/2 vastagbél-adenokarcinómát, 0/2 végbél-adenokarcinómát, 0/2 bőrdaganatot, 0/1 laphámsejtes gégekarinómát és 0/1 csecsemőmirigy atipikus karcinoid daganatot. (Vizsgált tumoresetek összesített száma = 222.)

### **Az NCL-L-ER-6F11/2 az emlőrákos szövetek ösztrogén receptor alfa státuszának meghatározására javasolt.**

## Általános korlátozások

Az immunhisztokémia több lépésből álló diagnosztikai folyamat, amely a következőket foglalja magában: speciális képzés alapján a megfelelő reagens kiválasztása; a szövetek kiválasztása, fixálása és feldolgozása; az IHC tárgylemez előkészítése; és a festési eredmények értelmezése.

A szövet festődése függ a szövet festés előtti kezelésétől és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, a fagyasztás, olvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszetkészítés, illetve a más szövetekkel vagy folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve álnegatív eredményeket okozhat. Ellentmondó eredményekhez vezethetnek a fixálási vagy beágyazási módszerek eltérései, illetve a szövet eredendő rendelkezései.<sup>4</sup>

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd által biztosított antitestek specifikus fixálási követelmények mellett, az utasításoknak megfelelően fagyasztott vagy paraffinba ágyazott szöveteken történő felhasználásra szolgálnak. Időnként váratlan antigén-expresszió fordulhat elő, különösen daganatok esetében. Bármely festett szövETmetszet klinikai értelmezéséhez morfológiai elemzést is kell végezni, és ki kell értékelni a megfelelő kontrollokat.

## Bibliográfia – általános

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Módosítások az előző változathoz képest

Felhasználási javaslatok, várható eredmények, Bibliográfia – általános.

## Kiadás dátuma

03 szeptember 2019

# Novocastra™ Anticorp lichid monoclonal de șoarece Estrogen Receptor

## Cod produs: NCL-L-ER-6F11/2

### Utilizare prevăzută

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-ER-6F11/2 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a moleculelor de receptor de estrogen în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patalog calificat.

### Principiul de procedură

Tehnice de colorare imunohistochimică (IHC) permit vizualizarea antigenilor prin aplicarea secvențială a unui anumit anticorp pe antigen (anticorp primar), a unui anticorp secundar pe anticorpul primar și a unui complex enzimatic cu un substrat cromogen, cu etape de spălare intercalate. Activarea enzimatică a cromogenului duce la un produs de reacție vizibil la locul aplicării antigenului. Specimenul poate fi apoi contracolorat și acoperit cu lamelă. Rezultatele sunt interpretate folosind un microscop optic și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor patofiziologice, care pot sau nu să fie asociate cu un anumit antigen.

### Clonă

6F11

### Imunogen

Proteină procarionică recombinantă corespunzând formei alfa cu lungime completă a moleculei umane de receptor de estrogen.

### Specificitate

Receptor de estrogen uman.

### Compoziția reactivului

NCL-L-ER-6F11/2 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

### Clasa Ig

IgG1

### Concentrație proteină totală Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

### Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 67,5 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

**Recuperarea indusă de căldură a epitopilor (HIER):** Urmați instrucțiunile de utilizare din Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluție sugerată:** 1:50 timp de 30 de minute la 25 °C. Aceste informații sunt furnizate cu rol de îndrumare, iar utilizatorii trebuie să-și stabilească singuri propriile diluții de lucru optime.

**Vizualizare:** Respectați instrucțiunile de utilizare din Novolink™ Polymer Detection Systems. Pentru asistență sau informații suplimentare cu privire la produs, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Eficiența acestui anticorp trebuie validată atunci când este utilizat cu alte sisteme de colorare manuală sau alte platforme automatizate.

### Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se congela. A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta flaconului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator.

### Pregătirea specimenului

Mediul de fixare recomandat este formalină tamponată neutră 10% pentru secțiunile de țesut încorporate în parafină.

### Avertismente și precauții

Acest reactiv a fost pregătit din supernatantul culturii celulare. Întrucât este un produs biologic, trebuie să se acționeze cu prudență rezonabilă la manipularea sa.

Acest reactiv conține azidă de sodiu. O Fișă tehnică de securitate a materialului este disponibilă la cerere sau pe site-ul [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Consultați reglementările naționale sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurii a tuturor componentelor potențial toxice. Probele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate la deșeurii luând măsurile de precauție adecvate. Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.

Timpii sau temperaturile de incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificări trebuie validate de către utilizator.

## Controlul calității

Diferențele în ceea ce privește procesarea țesutului și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului pot cauza o variabilitate semnificativă a rezultatelor, necesitând efectuarea cu regularitate de controale interne, în plus față de următoarele proceduri. Probele de control trebuie să fie probe proaspete de autopsie/biopsie/chirurgicale, fixate în formalină, procesate și încorporate în ceară de parafină cât mai curând posibil și în aceeași manieră ca și probele pacientului.

## Țesutul de control pozitiv

Folosit pentru a indica țesuturile pregătite corect și tehnicile de colorare adecvate.

O probă de țesut de control pozitiv trebuie să fie inclusă pentru fiecare set de condiții de testare în fiecare etapă de colorare.

Un țesut cu colorare pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorare pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului.<sup>2</sup>

Țesutul de control pozitiv recomandat este endometrul.

Dacă țesutul de control pozitiv nu demonstrează colorația pozitivă, rezultatele obținute cu acele probe de testare trebuie considerate nevalide.

## Țesutul de control negativ

Trebuie examinat după țesutul de control pozitiv pentru a verifica specificitatea informațiilor de etichetare ale antigenului țintă în funcție de anticorpul primar.

Țesutul de control negativ recomandat sunt elementele endoteliale ale amigdalei.

Ca alternativă, varietatea de tipuri diferite de celule prezente în majoritatea secțiunilor tisulare oferă frecvent locuri de control negativ, dar acest lucru trebuie verificat de către utilizator.

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are, de obicei, un aspect difuz. Colorația sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată, de asemenea, în secțiuni de țesuturi fixate în mod excesiv în formalină. Folosiți celule intacte pentru interpretarea rezultatelor de colorare. Celulele necrotice sau degenerate se colorează deseori într-un mod nespecific.<sup>3</sup> Se pot observa rezultate fals pozitive ca urmare a legării non-immunologice a proteinelor sau produșilor de reacție ai substratului. Acestea pot fi cauzate, de asemenea, de enzimele endogene precum pseudoperoxidaza (eritrocite), peroxidaza endogenă (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, encefal, rinichi), în funcție de tipul de imunocolorație folosit. Pentru a diferenția activitatea enzimelor endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, pot fi colorate țesuturi suplimentare de la pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

## Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ non-specific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen al pacientului pentru a evalua

colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorării specifice la situl antigenului.

## Țesutul pacientului

Examinați speciemenle pacientului colorate cu NCL-L-ER-6F11/2 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei

colorații de fond nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un panel pentru anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Clona 6F11 detectează antigenul alfa de receptor de estrogen (ER) în nucleele celulelor care exprimă nivele ridicate de ER, inclusiv o parte din celulele endometriale, ovariene și miometriale și celulele mamare ductale normale. Se poate observa colorare și în mucoasa amigdalei și o parte din celulele limfoide ale centrelor germinale. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 136).

### Țesuturi anormale

Clona 6F11 a colorat 137/222 tumori evaluate, incluzând tumori mamare (131/180), carcinoame papilare tiroidiene (3/4), tumori ovariene (2/4, incluzând 1/2 cistadenocarcinoame și 1/1 carcinoame cu celule clare), tumori metastatice de origine necunoscută (1/2), tumori pulmonare (0/4), tumori hepatice (0/4), tumori cerebrale (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului (0/2), adenocarcinoame ale stomacului (0/2), tumori ale țesuturilor moi (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale limbii (0/2), carcinoame cu celule renale (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin (0/2), seminoame testiculare (0/2), adenocarcinoame ale colonului (0/2), adenocarcinoame rectale (0/2), tumori ale pielii (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale laringelui (0/1) și tumori carcinoide atipice ale timusului (0/1). (Numărul total al cazurilor tumorale evaluate = 222).

**NCL-L-ER-6F11/2 este recomandat pentru determinarea stării receptorului de estrogen alfa în țesuturile de cancer mamar.**

## Limitări generale

Imunohistochimia este un proces de diagnostic cu mai multe etape, care constă din instruirea specializată în ceea ce privește alegerea reactivilor adecvați; alegerea, fixarea și procesarea țesutului; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor de colorare.

Colorarea tisulară depinde de manipularea și procesarea țesutului înainte de colorare. Fixarea, congelarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea necorespunzătoare sau contaminarea cu alte țesuturi ori fluide pot cauza artefacte, captura anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconsecvente pot fi atribuite diferențelor în ceea ce privește metodele de fixare și încorporare, ori neregularităților inerente ale țesutului.<sup>4</sup>

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Anticorpii de la Leica Biosystems Newcastle Ltd sunt destinați utilizării, conform indicațiilor, fie pe secțiuni congelate, fie pe secțiuni încorporate în parafină cu cerințe de fixare specifice. Poate apărea exprimarea neașteptată a antigenului, în special în neoplasme. Interpretarea clinică a oricărei secțiuni tisulare colorate trebuie să includă analiza morfologică și evaluarea probelor de control adecvate.

## Bibliografie - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F, Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. Journal of Pathology 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28), 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. International Journal of Cancer 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. American Journal of Pathology 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. Journal of Pathology 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. Domestic Animal Endocrinology 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khuruna KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. European Journal of Cancer 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. Journal of Clinical Pathology 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. Histopathology 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. Journal of Clinical Oncology 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. American Journal of Pathology 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. Journal of Pathology 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. Modern Pathology 1998; 11(4):357-363.

## Amendamente la ediția anterioară

Recomandări de utilizare, Rezultate așteptate, Bibliografie - General.

## Data publicării

03 septembrie 2019

# Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ Estrogen Receptor

Код продукта: NCL-L-ER-6F11/2

## Назначение

*Для диагностики in vitro.*

Препарат NCL-L-ER-6F11/2 предназначен для качественного определения молекул рецептора эстрогена в парафиновых срезах методом световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

## Принцип метода

Иммуногистохимические (ИГХ) методы окрашивания позволяют визуализировать антигены путем последовательного связывания специфического антитела с антигеном (первичное антитело), вторичного антитела с первичным антителом и ферментного комплекса с хромогенным субстратом. Между этими этапами выполняется промежуточная промывка. Ферментная активация хромогена приводит к образованию видимого продукта реакции в месте расположения антигена. После этого образцы можно подвергать контрастному окрашиванию и заключить под покровную пленку. Интерпретацию результатов выполняют под световым микроскопом и используют для дифференциальной диагностики патофизиологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с конкретным антигеном.

## Клон

6F11

## Иммуноген

Рекомбинантный белок из прокариотических клеток, соответствующий полной длине формы альфа молекулы рецептора эстрогена человека.

## Специфичность

Рецептор эстрогена человека.

## Состав реактива

NCL-L-ER-6F11/2 является супернатантом жидкой культуры тканей, содержащим азид натрия в качестве консерванта.

## Класс иммуноглобулинов

IgG1

## Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

## Концентрация антитела

Не менее 67,5 мг/л при измерении методом ИФА. Общая концентрация иммуноглобулина в каждой партии указана на этикетке флакона.

## Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

**Тепловая демаскировка эпитопа (HIER):** выполняйте инструкцию по применению, прилагаемую к препарату Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Рекомендуемое разведение:** 1:50 в течение 30 минут при 25 °С. Эти указания следует считать ориентировочными, и пользователи должны определить свои собственные параметры оптимального рабочего разведения.

**Визуализация:** Следуйте инструкциям по применению, которые прилагаются к системам визуализации Novolink™ Polymer Detection Systems. Для получения дополнительной информации о продукции и технической поддержке обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems либо, в качестве альтернативы, посетите веб-сайт компании Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

В случае применения этого антитела с другими ручными системами окрашивания или автоматизированными платформами следует выполнять валидацию его рабочих параметров.

## Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживать. Немедленно после применения вернуть на хранение при 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке флакона даты истечения срока годности. Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть проверены пользователем.

## Подготовка образцов

Для приготовления залитых в парафин срезов тканей рекомендуется фиксация в 10 % нейтральном забуференном формалине.

## Предупреждения и меры предосторожности

Этот реактив был изготовлен из супернатанта культуры клеток. При обращении с этим продуктом, как и с другими биологическими продуктами, следует соблюдать разумную осторожность.

Этот реактив содержит азид натрия. Паспорт безопасности химической продукции предоставляется по запросу или доступен на сайте



В отношении утилизации любых потенциально опасных компонентов следуйте требованиям федеральных, региональных и местных нормативных документов.

С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, которые находятся под их воздействием, следует обращаться как со способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности.<sup>1</sup> Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом и не допускайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью. Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

## Контроль качества

Различия в методах обработки тканей и технических процедурах, выполняемых в лаборатории пользователя, могут привести к существенной вариабельности результатов, в связи с чем требуется регулярное выполнение внутрिलाбораторных контролей в дополнение к указанным ниже процедурам.

В качестве контролей следует использовать свежие образцы, полученные при аутопсии, биопсии или хирургических процедурах, фиксированные в формалине, обработанные и как можно скорее залитые в парафин так же, как были обработаны полученные у пациентов образцы.

## Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

В каждый набор условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один срез ткани для положительного контроля. Для оптимального контроля качества и обнаружения незначительных уровней деградации реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.<sup>2</sup>

В качестве положительного контроля рекомендуется ткань эндометрия.

При отсутствии положительного окрашивания ткани, используемой в качестве положительного контроля, результаты, полученные с исследуемыми образцами, считаются недействительными.

## Отрицательный контроль ткани

Этот тест необходимо выполнять после положительного контроля ткани для проверки специфичности мечения целевого антигена первичным антителом.

В качестве отрицательного контроля рекомендуется использовать эндотелиальные элементы миндалин.

Кроме того, разнообразие типов клеток для отрицательного контроля можно часто найти в большинстве срезов тканей, однако такие препараты должны быть проверены пользователем.

Неспецифическое окрашивание, если оно присутствует, обычно выглядит диффузным. В срезах тканей, избыточно фиксированных формалином, можно также иногда увидеть окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации результатов окрашивания используйте интактные клетки. Некротизированные или разрушенные клетки часто окрашиваются неспецифически.<sup>3</sup> Неиммунное связывание белков или продуктов реакции с субстратом может привести к ложноположительным результатам. Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах), эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, головном мозге или почке) в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания. Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифического связывания ферментов от специфической иммунореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно хромогенным субстратом или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и хромогенным субстратом соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном контроле ткани результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

## Отрицательный контроль реактива

Для оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания в области связывания антигена, исследуя срезы каждого образца, взятого у пациента, вместо первичных антител используйте реактив, служащий в качестве неспецифического отрицательного контроля.

## Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы взятой у пациента ткани, которые окрашены с помощью NCL-L-ER-6F11/2, в последнюю очередь. Интенсивность положительного результата окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания реактива, представляющего собой отрицательный контроль. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или ткани. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

## Ожидаемые результаты

### Нормальные ткани

Клон 6F11 обнаруживает антиген альфа рецептора эстрогена (ER) в ядрах клеток, которые выражают высокие уровни ER, включая долю клеток эндометрия, яичника и миометрия и нормальных клеток протоков молочных желез. Окрашивание также может наблюдаться в слизистой оболочке миндалин и части зародышевых центров лимфоидных клеток. (Общее число исследованных нормальных образцов = 136).

### Патологически измененные ткани

Клон 6F11 окрасил 137/222 исследованных опухолей, включая опухоли молочной железы (131/180), папиллярные карциномы щитовидной железы (3/4), опухоли яичников (2/4, включая 1/2 случая цистаденокарциномы) и 1/1 случай светлоклеточной карциномы), метастатические опухоли неизвестного происхождения (1/2), опухоли легких (0/4), опухоли печени (0/4), опухоли головного мозга (0/2), плоскоклеточные карциномы пищевода (0/2), аденокарциномы желудка (0/2), опухоли мягких тканей (0/2), плоскоклеточные карциномы языка (0/2), карциномы почек (0/2), плоскоклеточные карциномы шейки матки (0/2), семиномы яичек (0/2), аденокарциномы толстой кишки (0/2), ректальные аденокарциномы (0/2), опухоли кожи (0/2), плоскоклеточные карциномы гортани (0/1) и атипичные карциноидные опухоли тимуса (0/1). (Общее число исследованных опухолей = 222).

**NCL-L-ER-6F11/2 рекомендуется использовать для определения статуса альфа рецептора эстрогена в ткани карциномы молочной железы.**

## Общие ограничения

Иммуногистохимическое исследование является многостадийным диагностическим процессом, требующим специальных навыков в выборе надлежащих реактивов; выборе, фиксации и обработке тканей; приготовлении среза с ИГХ препаратом; интерпретации результатов окрашивания.

Окрашивание тканей зависит от обращения с тканями и их обработкой перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями или жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам. Противоречивые результаты могут быть обусловлены различиями методов фиксации и заливки препарата или присущей тканям внутренней неравномерностью структуры.<sup>4</sup>

Чрезмерное или неполное контрастирование может негативно отразиться на точности интерпретации результатов.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Изготовленные компанией Leica Biosystems Newcastle Ltd антитела предназначены, как указано выше, для применения на замороженных или залитых в парафин срезах и требуют выполнения конкретных требований по фиксации. Возможна непредвиденная экспрессия антигена, особенно в опухолях. Клиническая интерпретация любого окрашенного среза ткани должна включать морфологический анализ и оценку соответствующих контролей.

## Литература — общая

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevit DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Дополнения к предыдущему выпуску

Рекомендации по применению, ожидаемые результаты, литература — общая.

## Дата выпуска

03 Сентябрь 2019

ER-6F11-L-2-CE

Page 49

# Płynne mysie przeciwciała monoklonalne Novocastra™

## Estrogen Receptor

### Kod produktu: NCL-L-ER-6F11/2

#### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Preparat NCL-L-ER-6F11/2 jest przeznaczony do jakościowej identyfikacji za pomocą mikroskopii świetlnej cząsteczek receptora estrogenowego w skrawkach parafinowych. Klinczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

#### Zasady postępowania

Metody barwienia immunohistochemicznego (IHC) umożliwiają wizualizację antygenów dzięki zastosowaniu – po kolei – swoistego przeciwciała przeciwko antygenowi (przeciwciała pierwszorzędowego), przeciwciała drugorzędowego przeciwko przeciwciału pierwszorzędowemu i kompleksu enzymu z substratem chromogennym z etapami przemycania. Aktywacja enzymatyczna chromogenu prowadzi do wytworzenia widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Następnie można wykonać barwienie kontrastowe próbki i zakryć ją szkiełkiem nakrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu świetlnego i pomagają w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek z określonym antygenem.

#### Klon

6F11

#### Immunogen

Prokariotyczne białko rekombinowane odpowiadające pełnej długości postaci alfa ludzkiej cząsteczki receptora estrogenowego.

#### Swoistość

Ludzki receptor estrogenowy

#### Skład odczynnika

NCL-L-ER-6F11/2 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zakonserwowanym azydkiem sodu.

#### Klasa Ig

IgG1

#### Całkowite stężenia białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 67,5 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA. Stężenie Ig w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

**Ciepłe odmaskowywanie epitopu (HIER):** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania załączoną do roztworu Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Sugerowane rozcieńczenie:** 01:50 przez 30 minut w temperaturze 25°C. Są to jedynie wskazówki i użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

**Wizualizacja:** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania dołączonej do Novolink™ Polymer Detection Systems. W celu uzyskania dodatkowych informacji o produkcie lub dalszej pomocy należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Działanie tego przeciwciała należy zweryfikować podczas używania z innymi ręcznymi metodami barwienia lub platformami automatycznymi.

#### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie zamrażać. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8°C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie fiołki. Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika.

#### Przygotowanie próbek

Zalecanym utrwalaczem jest 10-procentowa obojętna buforowana formalina do zatopionych w parafinie skrawków tkankowych.

#### Ostrzeżenia i środki ostrożności

Odczynnik został przygotowany z supernatantu hodowli tkankowej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas jego używania należy zachować odpowiednie środki ostrożności.

Ten odczynnik zawiera azydki sodu. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie lub dostępna na stronie [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.

Próbki przed i po utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.

Chronić odczynnik przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego. Zastosowanie okresów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

## Kontrola jakości

Różnice w przetwarzaniu tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą doprowadzić do znacznej zmienności wyników, co oznacza konieczność dodatkowego przeprowadzania regularnych kontroli wewnętrznych.

Kontrole należy przeprowadzać jak najszybciej na świeżych próbkach z autopsji/biopsji/operacji chirurgicznej utrwalonych, przetworzonych i zatopionych w parafinie, taką samą metodą, jaką badane są pobrane tkanki.

## Tkankowa kontrola pozytywna

Stosowana w celu wskazania prawidłowo przygotowanych tkanek i prawidłowych technik barwienia.

W każdej serii barwienia każdy zestaw warunków testowych powinien uwzględniać jedną tkankową kontrolę pozytywną.

Do optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej nadaje się tkanka o słabym barwieniu pozytywnym niż tkanka o silnym barwieniu pozytywnym.<sup>2</sup>

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować endometrium.

Jeśli tkankowa kontrola pozytywna nie wykaże odpowiedniego barwienia pozytywnego, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

## Tkankowa kontrola negatywna

Należy ją wykonać po tkankowej kontroli pozytywnej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygeny przez przeciwciała pierwszorzędowe.

Tkankowa kontrola negatywna powinna obejmować elementy śródbłonkowe migdałka.

Ewentualnie tkankowa kontrola negatywna może obejmować różne typy komórek obecne w większości skrawków tkankowych, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Barwienie niespecyficzne, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utralonego w formalinie można również zaobserwować sporadyczne barwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieuszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują barwienie niespecyficzne.<sup>3</sup> Wyniki fałszywie pozytywne mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub występowania produktów reakcji substratów. Mogą być również spowodowane przez endogenne enzymy, takie jak pseudoperoxydaza (erytrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna biotyna (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta mogą być barwione wyłącznie substratem chromogenem lub kompleksem enzymatycznym (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenem. Jeśli w trakcie tkankowej kontroli negatywnej nastąpi barwienie specyficzne, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

## Negatywna kontrola odczynnika

Aby przeprowadzić ocenę barwienia niespecyficznego oraz umożliwić lepszą interpretację barwienia specyficznego na każdym skrawku z próbki pobranej od pacjenta należy przeprowadzić nieswoistą kontrolę negatywną odczynnika w miejscu wiązania przeciwciała pierwszorzędowego.

## Tkanka pacjenta

Próbki pobrane od pacjenta barwione NCL-L-ER-6F11/2 należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego barwienia niespecyficznego tła w negatywnej kontroli odczynnika. Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, co jednak nie oznacza, że jest on nieobecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności do identyfikacji reakcji fałszywie negatywnych należy wykorzystać panel przeciwciał.

## Oczekiwane wyniki

### Tkanki prawidłowe

Klon 6F11 wykrywa antygen alfa receptora estrogenowego (ER) w jądrach komórek, w których występuje wysoki poziom ER, w tym w komórkach endometrium, jajnika i myometrium oraz prawidłowych komórkach przewodowych sutka. Barwienie można również zaobserwować w błonie śluzowej migdałków i części komórek limfoidalnych w centrum zarodkowym. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 136).

### Tkanki nieprawidłowe

Klon 6F11 wykrywa antygen alfa receptora estrogenowego (ER) w jądrach komórek, w których występuje wysoki poziom ER, w tym w komórkach endometrium, jajnika i myometrium oraz prawidłowych komórkach przewodowych sutka. Barwienie można również zaobserwować w błonie śluzowej migdałków i części komórek limfoidalnych w centrum zarodkowym. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 136).

Klon 6F11 wykrywa antygen alfa receptora estrogenowego (ER) w jądrach komórek, w których występuje wysoki poziom ER, w tym w komórkach endometrium, jajnika i myometrium oraz prawidłowych komórkach przewodowych sutka. Barwienie można również zaobserwować w błonie śluzowej migdałków i części komórek limfoidalnych w centrum zarodkowym. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 136).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-ER-6F11/2 do określania stanu receptora alfa estrogeny w tkankach raka sutka.**

## Ograniczenia ogólne

Badanie immunohistochemiczne to wieloetapowy proces diagnostyczny, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników i tkanek, utrwalania i przetwarzania tkanek, przygotowywania preparatów immunohistochemicznych oraz interpretacji wyników barwienia.

Barwienie tkanek zależy od postępowania z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalanie, zamrażanie,

rozmażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, ścinanie skrawków lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub wyniki fałszywie negatywne. Niepójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utwardzania i zatapiań lub nieprawidłowości związanej z tkanką<sup>4</sup>

Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może negatywnie wpływać na właściwą interpretację wyników.

Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Oceny powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do badania skrawków zamrożonych lub zatopionych w parafinie, które utwardzono zgodnie z określonymi wymogami. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygeny, szczególnie w przypadku nowotworów. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę przeprowadzoną w ramach odpowiednich kontroli.

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevit DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28), 2003*, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khuruna KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor-α Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

Zalecenia dotyczące stosowania, Oczekiwane wyniki, Bibliografia - ogólna

## Data publikacji

03 września 2019

# Tekoče mišje monoklonsko protiteleso Novocastra™

## Estrogen Receptor

### Koda izdelka: NCL-L-ER-6F11/2

#### Predvidena uporaba

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Izdelek NCL-L-ER-6F11/2 je namenjen za kvalitativno identifikacijo molekul izdelka estrogenskega receptorja v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

#### Načelo postopka

Imunohistokemijske (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z izvajanjem zaporednega nanosa – z vmesnimi koraki izpiranja – specifičnega protitelesa na antigen (primarno protiteleso), sekundarnega protitelesa na primarno protiteleso in encima kompleksa s kromogenim substratom. Encimska aktivacija kromogena povzroči vidno reakcijo izdelka na mestu antigena. Tak vzorec lahko nato nasprotno barvamo in pokrijemo s krovnim stekelcem. Rezultate nato obdelamo s pomočjo svetlobnega mikroskopa in jih uporabimo pri diferencialni diagnozi patološko-fizioloških procesov, ki so morda povezani z določenim antigenom ali pa tudi ne.

#### Klon

6F11

#### Imunogen

Prokarionski rekombinantni protein, ki ustreza celotni dolžini molekule človeškega estrogenskega receptorja alfa.

#### Specifičnost

Človeški estrogenski receptor

#### Sestava reagenta

NCL-L-ER-6F11/2 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje natrijev azid kot konzervans.

#### Razred Ig

IgG1

#### Skupna koncentracija beljakovin

Total Protein

Skupna koncentracija beljakovin v določeni seriji je navedena na oznaki na viali.

#### Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 67,5 mg/l, določena s testom ELISA. Glejte oznako na viali za koncentracijo Ig določene serije.

#### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

**Toplotno pridobivanje epitopa (HIER):** Upoštevajte navodila za uporabo raztopine za pridobivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Predlagano redčenje:** 1:50 za 30 minut pri 25 °C. To so samo smernice; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne razredčine.

**Vizualizacija:** Upoštevajte navodila za uporabo sistemov za zaznavanje polimerov Novolink™ Polymer Detection Systems. Za dodatne informacije o izdelku ali podporo se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems, lahko pa tudi obiščete spletno mesto družbe Leica Biosystems na naslovu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Učinkovitost tega protitelesa je treba validirati, kadar ga uporabljate z drugimi sistemi za ročno barvanje ali avtomatiziranimi okolji.

#### Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki na viali. Uporabnik naj preveri pogoje shranjevanja, ki se razlikujejo od zgoraj navedenih.

#### Priprava vzorcev

Priporočena fiksirna raztopina je 10-% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, vstavljene v parafin.

#### Opozorila in previdnostni ukrepi

Vir priprave tega reagenta je supernatant celične kulture. Ker je to biološki izdelek, je treba z njim ravnati z ustrežno skrbnostjo.

Ta reagent vsebuje natrijev azid. Varnostni list je na voljo na zahtevo ali na naslovu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Upoštevajte zvezne, državne ali lokalne predpise za odstranjevanje vseh morebitnih strupenih sestavin.

Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim ukrepom.<sup>1</sup> Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo in sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

Pazite, da ne pride do mikrobnih okužb reagentov, saj lahko povzročijo nespecifično barvanje.

Če uporabite čas ali temperature inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

## Kontrola kakovosti

Razlike pri obdelavi tkiva in tehničnih postopkih v laboratoriju uporabnika lahko vodijo do precejšnje variabilnosti rezultatov, kar zahteva redne interne kontrole učinkovitosti poleg spodaj navedenih postopkov.

Kontrolni vzorci morajo biti sveži vzorci, pridobljeni z obdukcijo/biopsijo/kirurškim posegom, fiksirani s formalinom, obdelani in shranjeni v parafinskem vosku kakor hitro je mogoče ter na isti način, kot vzorci bolnikov.

## Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

Uporabite jih za opredelitev pravilno pripravljenih tkiv in ustreznih tehnik barvanja.

Pri vsakem postopku barvanja morate vsakemu sklopu preizkusnih pogojev dodati en pozitiven kontrolni vzorec tkiva.

Za kar najboljšo kontrolo kakovosti in boljše zaznavanje manjših stopenj razkroja reagenta je bolj primerno uporabiti tkivo s šibkim pozitivnim obarvanjem kot tkivo z močnim pozitivnim obarvanjem.<sup>2</sup>

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo endometrija.

Če pozitivni kontrolni vzorci tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, morate rezultate preizkusnih vzorcev zavreči kot neveljavne.

## Negativni kontrolni vzorci tkiva

Pregledati jih morate po pregledu pozitivnih kontrolnih vzorcev tkiva, da preverite specifičnost oznake ciljnega antigena glede na primarno protiteleso.

Za negativni kontrolni vzorec tkiva priporočamo endotelijske dele tonzile.

Drugачe pa se kot negativni kontrolni vzorci pogosto uporablja vrsta različnih celic, ki so prisotne v večini rezin tkiv, vendar pa mora tako uporabo preveriti uporabnik.

Nespecifično barvanje, če je prisotno, je običajno razpršeno. Opazite lahko tudi posamično obarvanje vezivnega tkiva v rezinah tkiv, kot posledica premočnega fiksiranja s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nespremenjene celice. Obarvanje nekrotičnih ali degeneriranih celic je pogosto nespecifično.<sup>3</sup> Lažno pozitivni rezultati se lahko pojavijo zaradi neimunološke vezave proteinov ali produktov reakcije substrata. Povzročijo jih lahko tudi endogeni encimi, kot so psevdoperoksidaza (eritrociti), endogena peroksidaza (citokromni C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvila. Za razlikovanje med endogeno aktivnostjo encimov ali nespecifično vezavo encimov zaradi specifične imunske reaktivnosti, lahko barvate dodatna tkiva bolnika izključno ali s kromogenim substratom ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) in kromogenim substratom. Če pride do specifičnega obarvanja negativnih kontrolnih vzorcev tkiva, morate rezultate vzorcev bolnika zavreči kot neveljavne.

## Negativni kontrolni reagent

Za oceno nespecifičnega barvanja in boljšo razlago specifičnega obarvanja na antigenem mestu uporabite nespecifični negativni kontrolni reagent namesto primarnega protitelesa z eno rezino vsakega vzorca bolnika.

## Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-ER-6F11/2. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa odsotnosti antigena v testiranih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite nabor protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon 6F11 je zaznal antigen estrogenskega receptorja (ER) alfa v jedrih celic, ki izražajo visoko koncentracijo ER, vključno z delom endometrijskih, ovarijskih in miometrijskih celic ter normalnimi duktalnimi celicami dojke. Obarvanje je mogoče opaziti tudi pri sluznici tonzile in delu limfoidnih celic germinalnih središč. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 136).

### Nenormalna tkiva

Klon 6F11 je obarval 137/222 ocenjenih tumorjev, vključno s tumorji dojke (131/180), papilarnimi karcinomi ščitnice (3/4), tumorji jajčnikov (2/4, vključno z 1/2 cistadenokarcinomov in 1/1 svetloceličnega karcinoma), metastatskimi tumorji neznanega izvora (1/2), pljučnimi tumorji (0/4), jetrnimi tumorji (0/4), možganskimi tumorji (0/2), ploščatoceličnimi karcinomi požiralnika (0/2), želodčnimi adenokarcinomi (0/2), tumorji mehkih tkiv (0/2), ploščatoceličnimi karcinomi jezika (0/2), karcinomi ledvičnih celic (0/2), ploščatoceličnimi karcinomi materničnega vratu (0/2), seminomi testisov (0/2), adenokarcinomi kolona (0/2), rektalnimi adenokarcinomi (0/2), kožnimi tumorji (0/2), ploščatoceličnim karcinomom grla (0/1) in atipičnimi karcinoidnimi tumorji priželjca (0/1). (Skupno število ocenjenih primerov s tumorji = 222).

### NCL-L-ER-6F11/2 se priporoča za določanje statusa estrogenskega receptorja alfa pri rakavem tkivu dojke.

## Splošne omejitve

Imunohistokemija je diagnostični postopek z več koraki, ki zahteva specializirano usposabljanje za izbiro ustreznih reagentov, izbiro, fiksiranje in obdelavo tkiv, pripravo IHC-preparata in razlago rezultatov obarvanja.

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegove obdelave pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odtajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali lažne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega.<sup>4</sup> Prekomerno ali nepopolno nasprotno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno tolmačenje rezultatov.

Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Protitelesa družbe Leica Biosystems Newcastle Ltd so namenjena uporabi, kot je navedeno, na zamrznjenih ali v parafin vstavljenih rezinah z določnimi zahtevami za fiksiranje. Lahko pride do nepričakovanega izražanja antigena, zlasti pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.



## Splošna literatura

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji

Priporočila za uporabo, Pričakovani rezultati, Splošna literatura

## Datum izdaje

03 september 2019



# Tekutá myši monoklonální protilátka Novocastra™

## Estrogen Receptor

### Kód výrobku: NCL-L-ER-6F11/2

#### Zamýšlené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-ER-6F11/2 je určen ke kvalitativnímu stanovení molekul estrogenových receptorů (ER) světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinikou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

#### Princip metody

Imunohistochemické (IHC) barvicí techniky umožňují vizualizaci antigenů pomocí sekvenční aplikace specifické protilátky proti antigenu (primární protilátka), sekundární protilátky proti primární protilátce a enzymového komplexu s chromogenním substrátem s interponovanými omývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu má za následek viditelnou reakci produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně nabarven a překryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují ve světlém mikroskopu; jsou pomůckou v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí, souviset s příslušným antigenem.

#### Klon

6F11

#### Imunogen

Prokaryotický rekombinantní protein odpovídající plné délce alfa formy lidské molekuly estrogen receptor.

#### Specifita

Lidský estrogen receptor.

#### Složení reagensie

Produkt NCL-L-ER-6F11/2 je lyofilizovaný supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

#### Třída Ig

IgG1

#### Koncentrace celkového proteinu Total Protein

Koncentrace celkového proteinu specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

#### Koncentrace protilátek

67,5 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA. Koncentrace imunoglobulinu (Ig) specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

#### Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

**Teplem indukované odmaskování epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Postupujte podle pokynů k použití k roztoku Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Doporučené ředění:** 1:50 po dobu 30 minut při 25 °C. Toto doporučení je uvedeno jako vodítko; uživatelé musí stanovit vlastní optimální pracovní ředění.

**Vizualizace:** Postupujte podle návodu k použití k systémům Novolink™ Polymer Detection Systems. Pro více informací či podporu kontaktujte vaši lokální nebo regionální kancelář Leica Biosystems nebo navštivte webové stránky Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Výkon této protilátky je třeba validovat, pokud se používá s jinými systémy pro ruční barvení nebo na automatických platformách.

#### Skladování a stabilita

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte. Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku na lahvičce. Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel validovat.

#### Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro řezy tkáně zalité v parafinu je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

#### Varování a bezpečnostní opatření

Tato reagensie byla připravena ze supernatantu z buněčné kultury. Protože jde o biologický produkt, je nutno manipulaci s ní věnovat náležitou pozornost.

Tato reagensie obsahuje azid sodný. Bezpečnostní list materiálu je k dispozici na požádání nebo je dostupný na webu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.

Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály jim vystavenými, je nutno zacházet, jako by mohly způsobit přenos infekce, a likvidovat je s náležitými bezpečnostními opatřeními. Reagensie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagensií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagensie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omýjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensií, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.

Inkubační doby nebo teploty jiné než předepsané mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

## Kontrola jakosti

Rozdíly ve zpracování tkání a v technických postupech v laboratoři uživatele mohou způsobit významnou variabilitu výsledků, což vyžaduje kromě níže uvedených postupů i pravidelné provádění kontrol v laboratoři.

Kontroly musí být čerstvé pitevni/bioptické/operační vzorky co nejdříve fixované formálním, zpracované a zalité do parafinového vosku, stejným způsobem jako vzorek/vzorky pacienta.

## Positivní tkáňová kontrola

Používá se k průkazu správně připravených tkání a správných barvicích technik.

V každém barvicím cyklu musí být použita jedna pozitivní tkáňová kontrola pro každý soubor testovacích podmínek.

Pro optimální kontrolu jakosti a k detekci menšího stupně degradace reagenzie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.<sup>2</sup>

Doporučenou pozitivní tkáňovou kontrolou je endometrium.

Pokud pozitivní tkáňová kontrola nevykazuje pozitivní barvení, musí být výsledky testovaných vzorků považovány za neplatné.

## Negativní tkáňová kontrola

Musi být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specifity označení cílového antigenu primární protilátkou.

Doporučená tkáň pro negativní kontrolu jsou endoteliální prvky tonzily.

Alternativně často představuje místa negativní kontroly řada různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řežů, to ale musí uživatel validovat.

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálním může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.<sup>3</sup> Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem imunologické vazby proteinů nebo produktů reakčního substrátu. Mohou být také způsobeny endogenními enzymy, jako je např. pseudoperoxidáza (erytrocyty), endogenní peroxidáza

(cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarvíva. K odlišení aktivity endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáně pacienta výlučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

## Negativní reagenční kontrola

K vyhodnocení nespecifického barvení a umožnění lepší interpretace specifického barvení v místě antigenu použijte na řezu z každého vzorku pacienta nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky.

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-ER-6F11/2. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším

nespecifickým barvením pozadí u negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáňé

Klon 6F11 detekuje antigen alfa estrogen receptor (ER) v jádrech buněk, které exprimují vysoké úrovně ER, včetně částí endometriálních, ovariálních, myometriálních buněk a ductálních buněk normálního prsu. Barvení je možné pozorovat také na sliznici tonzily a části germinálních center lymfoidních buněk. (Celkový počet vyšetřených normálních tkání = 136).

### Abnormální tkáňé

Klon 6F11 obarvil 137/222 hodnocených nádorů, včetně nádorů prsu (131/180), thyroïdních papilárních karcinomů (3/4), nádorů vaječníku (2/4, včetně 1/2 cystadenokarcinomů a 1/1 světlobuněčných karcinomů), metastatických nádorů neznámého původu (1/2), nádorů plic (0/4), nádorů jater (0/4), nádorů mozku (0/2), spinocelulárních karcinomů jícnu (0/2), adenokarcinomů žaludku (0/2), nádorů měkkých tkání (0/2), spinocelulárních karcinomů jazyka (0/2), karcinomů renálních buněk (0/2), spinocelulárních karcinomů děložního hrdla, (0/2), testikulárních seminomů (0/2), adenokarcinomů tlustého střeva (0/2), adenokarcinomů rekta (0/2), nádorů kůže (0/2), dlaždicobuněčných karcinomů hrtanu (0/1) a atypického karcinoidního nádoru brzlíku (0/1). (Celkový počet vyšetřovaných nádorů = 222).

NCL-L-ER-6F11/2 se doporučuje ke stanovení stavu alfa estrogen receptor u tkání rakoviny prsu.

## Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je víceokrový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagenzií; výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě imunohistochemického sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení. Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řežů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití v konzervačním médiu, nebo přirozených odchylek ve tkáni.<sup>4</sup> Nadměrné nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfoloogickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Protilátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají, jak bylo uvedeno, u zmrazených nebo u parafinových řežů se specifickými požadavky na fixaci. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoliv barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfoloogickou analýzu a zhodnocení příslušných kontrol.

## Literatura - všeobecná

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003. 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diétel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diétel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Opravy předchozího vydání

Doporučení pro použití, očekávané výsledky, literatura – všeobecná.

## Datum vydání

03 září 2019

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

## Estrogen Receptor

### Kód produktu: NCL-L-ER-6F11/2

#### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-ER-6F11/2 slúži na kvalitatívnu identifikáciu molekúl estrogénového receptora v parafínových rezoch pomocou svetelnej mikroskopie. Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

#### Princíp postupu

Techniky imunohistochemického (IHC) zafarbenia umožňujú vizualizáciu antigénov sekvenčnou aplikáciou špecifickej protilátky proti antigénu (primárna protilátka), sekundárnej protilátky proti primárnej protilátke a enzymatického komplexu s chromogénnym substrátom. Medzi jednotlivými krokmi prebieha premývanie. Enzymatická aktivácia chromogénu vytvára v mieste antigénu viditeľné produkty reakcie. Môžete doplniť kontrastné zafarbenie vzorky a zakryť ju krycím sklíčkom. Výsledky sa interpretujú pomocou svetelného mikroskopu a napomáhajú pri diferenciálnej diagnostike patofyziologických procesov, ktoré môžu, ale nemusia byť spojené s určitým antigénom.

#### Klon

6F11

#### Imunogén

Prokaryotický rekombinantný proteín zodpovedajúci úplnej dĺžke alfa formy ľudskej molekuly estrogénového receptora.

#### Špecificita

Ľudský estrogénový receptor.

#### Zloženie činidla

NCL-L-ER-6F11/2 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

#### Trieda Ig

IgG1

#### Celková koncentrácia proteínov

Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifických pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 67,5 mg/l podľa ELISA. Koncentráciu Ig špecifických pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

**Záchyt epitopov s tepelnou indukciou (HIER):** Postupujte podľa návodu na použitie systému Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Odporúčané riedenie:** 1 : 50 počas 30 minút pri teplote 25 °C. Táto hodnota je orientačná, používatelia si musia stanoviť svoje vlastné optimálne pracovné riedenia.

**Vizualizácia:** Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink™ Polymer Detection Systems. Ďalšie informácie o produkte alebo podporu vám poskytne váš miestny distribútor alebo lokálne zastúpenie spoločnosti Leica Biosystems. Takisto môžete navštíviť internetové stránky spoločnosti Leica Biosystems:

[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Funkčnosť tejto protilátky je nutné validovať pri použití s inými manuálnymi systémami farbenia alebo automatizovanými platformami.

#### Uskladnenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nezmrazujte. Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku fľaštičky. Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom.

#### Príprava vzorky

Odporúčaný fixačný prípravok je 10 % neutrálny pufrovaný formalín pre bločky tkaniva zaliate do parafínu.

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

Toto činidlo bolo pripravené zo supernatantu bunkovej kultúry. Keďže ide o biologický produkt, pri manipulácii je nutné vynaložiť zodpovedajúcu starostlivosť.

Toto činidlo obsahuje azid sodný. Materiálový bezpečnostný list je k dispozícii na požiadanie alebo na stránkach

[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.

So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrní.<sup>1</sup> Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.

Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia. Nedodržanie predpísaných inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

## Kontrola kvality

Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môžu viesť k významnému kolísaniu výsledkov, čo si vyžaduje, okrem nasledujúcich postupov, aj pravidelné interné kontroly.

Kontroly by mali byť čerstvé pitevné/bioptické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formálnom alebo spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

## Pozitívna kontrola tkanívom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia.

Každá súprava testových podmienok v každom cykle zafarbenia musí obsahovať jednu pozitívnu kontrolu tkanívom.

Tkanivo so slabým pozitívnym farbením je pre optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.<sup>2</sup>

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je endometrium.

Ak pozitívna kontrola tkanívom nebude vykazovať pozitívne zafarbenie, výsledky testovaných vzoriek je nutné považovať za neplatné.

## Negatívna kontrola tkanívom

Nutné vyšetriť po pozitívnej kontrole tkanívom s cieľom overiť špecifickosť značenia cieľového antigénu primárnou protilátkou.

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu sú endotelové prvky tonzil.

Ako negatívnu kontrolu je možné použiť aj rôzne typy buniek prítomné vo väčšine tkanivových rezov, takýto postup si však vyžaduje validáciu používateľom.

Prípadné nešpecifické farbenie má obvykle difúznu vzhľad. V rezoch tkanív silne fixovaných formálnom môže byť pozorované sporadické farbenie spojiva. Na interpretáciu výsledkov farbenia používajte intaktné bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbja nešpecificky.<sup>3</sup> Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj endogénnymi enzymami, ako napr. pseudoperoxidázou (erythrocyty), endogénnou peroxidázou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeneň, mozog, oblička) v závislosti od typu imunologického farbenia. S cieľom diferencovať endogénnu enzymatickú aktivitu alebo nešpecifickú väzbu enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžete nafarbiť ďalšie vzorky tkanív pacienta výhradne substrátovým chromogénom alebo enzymatickými komplexmi (avidín-biotín, streptavidín, značený polymér), resp. substrátovým chromogénom. V prípade špecifického farbenia v negatívnej kontrole tkanívom je nutné výsledky vzoriek pacienta považovať za neplatné.

## Negatívna kontrola činidlom

Na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia použite nešpecifickú negatívnu kontrolu činidlom miesto primárnej protilátky s rezom jednotlivých vzoriek pacienta, čo umožní lepšiu interpretáciu špecifického farbenia na mieste antigénu.

## Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené prípravkom NCL-L-ER-6F11/2 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného

nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly činidlom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testov znamená negatívny výsledok, že antigén nebol detegovaný. Nepotvrďuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon 6F11 detegoval alfa antigén estrogénového receptora (ER) v jadrách buniek, ktoré exprimujú vysoké úrovne ER, vrátane časti buniek endometria, vaječníkov a myometria a normálnych duktálnych buniek prsníka. Zafarbenie je tiež možné pozorovať v sliznici tonzil a časti lymfoidných buniek zárodočného centra. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 136).

### Abnormálne tkanivá

Klon 6F11 zafarbil 137/222 hodnotených nádorov vrátane nádorov prsníka (131/180), papilárnych karcinómov štítnej žľazy (3/4), nádorov vaječníkov (2/4, vrátane 1/2 cystadenokarcinómov a 1/1 karcinómu zo svetlých buniek), metastatických nádorov neznámeho pôvodu (1/2), nádorov pľúc (0/4), nádorov pečene (0/4), nádorov mozgu (0/2), skvamocelulárnych karcinómov pažeráka (0/2), adenokarcinómov žalúdka (0/2), nádorov mäkkých tkanív (0/2), skvamocelulárnych karcinómov jazyka (0/2), karcinómov renálnych buniek (0/2), skvamocelulárnych karcinómov krčka maternice (0/2), seminómov semenníkov (0/2), adenokarcinómov hrubého čreva (0/2), adenokarcinómov konečníka (0/2), nádorov kože (0/2), skvamocelulárneho karcinómu hrtana (0/1) a atypického karcinoidného nádoru týmusu (0/1). (Celkový počet vyšetrených nádorov = 222).

### NCL-L-ER-6F11/2 sa odporúča na určenie stavu estrogénového receptora alfa v tkanive nádoru prsníka.

## Všeobecné limitácie

Imunohistochemia je diagnostický postup pozostávajúci z viacerých krokov, ktorý si vyžaduje špecializované zaškolenie vo výbere zodpovedajúcich činidiel, výbere tkanív, fixácie a spracovania, príprave IHC sklíčka a interpretácii výsledkov farbenia.

Farbenie tkaniva závisí od manipulácie s tkanivom a od jeho spracovania pred farbením. Nesprávna fixácia, zmrazovanie, rozmrazovanie, premývanie, sušenie, ohrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami či tekutinami môžu viesť k vzniku artefaktov, záchytu protilátok alebo falošne negatívnym výsledkom. Inkonzistentné výsledky môžu byť spôsobené zmenami metód fixácie a montáže preparátov alebo inherentnými nepravdivosťami v tkanive.<sup>4</sup>

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Protilátky spoločnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd sú určené na použitie na zmrazených rezoch alebo rezoch zaliatých parafinom so špecifickými požiadavkami na fixáciu, ako uvádza tento dokument. Najmä pri neopláziách môže dôjsť k nečakanej expresii antigénov.

Klinická interpretácia akýchkoľvek farbených tkanivových rezov musí zahŕňať morfológickú analýzu a vyhodnotenie zodpovedajúcich kontrol.

## Bibliografia – všeobecne

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. *United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28)*, 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *International Journal of Cancer* 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *American Journal of Pathology* 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. *Journal of Pathology* 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology* 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. *European Journal of Cancer* 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *Journal of Clinical Pathology* 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. *Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology*. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor- $\alpha$  Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. *American Journal of Pathology* 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Dietel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. *Journal of Pathology* 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Dietel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. *Modern Pathology* 1998; 11(4):357-363.

## Úpravy predchádzajúceho vydania

Odporúčania na použitie, Očakávané výsledky, Bibliografia – všeobecne.

## Dátum vydania

03 septembra 2019

# جسم Novocastra™ المضاد وحيد النسيلة من الفأر Estrogen Receptor رمز المنتج: NCL-L-ER-6F11/2

## الإستعمال المستهدف

للاستخدام في المختبر لغرض التشخيص

تم تصميم NCL-L-ER-6F11/2 للتحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لحزيمات مستقبلات الإستروجين في أقسام البارفان. ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّيح أو غيابها من خلال الدراسات المورفولوجية والضوابط الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

## مبدأ الإجراء

تسمح تقنيات التلوّيح الكيمائي النسيجي المناعي (IHC) بتصوير المستضدات عبر التطبيق المتسلسل لجسم مضاد محدد إلى المستضد (الجسم المضاد الأولي)، وجسم مضاد ثانوي إلى الجسم المضاد الأولي، ومركب إنزيمي مع راسب مولّد للون مع خطوات غسيل متداخلة. ينتج التنقيط الإنزيمي لمولّد اللون في منتج تفاعل مرئي في موقع المستضد. قد تتحول العينة بعد ذلك لتكون مضادة للتلوّيح ومنزلة الغطاء. يتم تفسير النتائج باستخدام مجهر ضوئي والمساعدة في التشخيص التفصيلي للعمليات الفسيولوجية المرضية، والتي قد تكون مرتبطة أو غير مرتبطة بمستضد معين.

## المستضد

6F11

## المستضد

بروتين مأنوب بدائي النواة متوافق مع شكل ألفا كامل الطول لحزيء مستقبلات الإستروجين البشري.

## الخصوصية

مستقبل إستروجين بشري.

## تكوين الكاشف

NCL-L-ER-6F11/2 هي مادة طافية لزراعة الأنسجة المسائلة تحتوي على أزيد الصوديوم كمادةحافظة.

## قوة الغلوبولين المناعي

IgG1

## تركيز البروتين الكلي

Total Protein

ارجع إلى ملصق الأمبول لمعرفة مجموعة تركيز البروتين الكلي المحدد.

## تركيز الجسم المضاد

أكثر من أو يساوي 67.5 مج/نلر حسيما تحدد مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنتيم (ELISA). ارجع إلى ملصق الأمبول لمعرفة مجموعة تركيز الغلوبولين المناعي الكلي المحدد.

## توصيات حول الاستخدام

الكينيات الهيستولوجية المناعية على مقاطع البرافان.

استرجاع الحامئة المثل بالحرارة (HIER): يُرجى اتباع التعليمات لاستخدامها في pH 6 Novocastra Epitope Retrieval Solution.

التخفيف المقترح: 1:50 لمدة 30 دقيقة عند 25 درجة مئوية. يتم توفير هذا كليل ويجب على المستخدمين تحديد التخفيفات المثالية المتداولة الخاصة بهم.

التصوير: يُرجى اتباع التعليمات للاستخدام في Novolink™ Polymer Detection Systems. لمزيد من المعلومات أو الدعم عن المنتج، اتصل بالموزع المحلي لديك أو المكتب الإقليمي لشركة Leica Biosystems، أو بدلاً من ذلك، قم بزيارة موقع ويب Leica Biosystems.

www.LeicaBiosystems.com

يجب التحقق من صحة أداء هذا الجسم المضاد عند استخدامه مع أنظمة تلوّيح يدوية أخرى أو منصات آلية.

## التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. يجب عدم تجميده. أعد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرة. لا يُستعمل بعد تاريخ انتهاء الصلاحية المدون على ملصق الأمبول.

يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه.

## تحضير العينة

المادة المثبتة الموصى بها هي الفورمالين 10% حيادي التنظيم لأقسام الأنسجة المضمنة في البارافان.

## تحذيرات واحتياطات

تم إعداد هذا الكاشف من مادة طافية لزراعة الخلايا. وبما أنه منتج بيولوجي، فينبغي توخي الحذر عند التعامل معه.

يحتوي هذا الكاشف على أزيد الصوديوم. تتوفر ورقة بيانات سلامة المواد عند الطلب أو من خلال

www.LeicaBiosystems.com

راجع اللوائح القيدرية، أو لوائح السلامة، أو اللوائح المحلية للتخلص من أي مكونات سامة محتملة.

ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة.<sup>1</sup> لا تمص الكواشف مطلقاً عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف أو العينات. إذا كانت الكواشف أو العينات تتحكك بمناطق حساسة، فغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.

قلّل التلوث الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلوّيح غير المحدد.

قد تؤدي أوقات الحضانة أو درجات الحرارة، بخلاف تلك المحددة، إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أية تغييرات كيهذ من جانب المستخدم.

## ضبط الجودة

قد تؤدي الاختلافات في معالجة الأنسجة والإجراءات التقنية في مختبر المستخدم إلى حدوث تباين كبير في النتائج، مما يتطلب الأداء المنتظم للضوابط الداخلية بالإضافة إلى الإجراءات التالية. يجب أن تكون الضوابط التشريحية/الخزعات/العينات الجراحية جديدة، مثبتة بالفورمالين، تمت معالجتها ومضمنة بشمع البارافان بأسرع وقت ممكن بنفس الطريقة مثل عينة (عينات) المريض.

## تحكم النسيج الإيجابي

يستخدم للإشارة إلى الأنسجة التي تم إعدادها بصورة صحيحة وأساليب التطعيم السليمة.

يجب تضمين تحكم نسيج إيجابي واحد لكل مجموعة من ظروف الاختبار في كل عملية تطعيم.

يكون النسيج ذو التطعيم الإيجابي الضعيف ملائماً بصورة أكبر من النسيج ذي التطعيم الإيجابي القوي، وذلك بغرض ضبط الجودة المثالي والكشف عن مستويات طفيفة من تدهور الكاشف<sup>2</sup>.

أنسجة التحكم الإيجابي الموصى بها هي بطانة الرحم.

إذا فشل تحكم النسيج الإيجابي في إظهار التطعيم الإيجابي، فينبغي اعتبار نتائج عينات الاختبار غير صحيحة.

## تحكم النسيج السلبي

ينبغي فحصه بعد تحكم النسيج الإيجابي للتحقق من خصوصية وضع تسميات المستضد المستهدف عن طريق الجسم المضاد الأولي.

أنسجة التحكم السلبي الموصى بها هي العناصر البطانية من اللوزتين.

وبدلاً عن ذلك، هناك مجموعة متنوعة من مختلف أنواع الخلايا الموجودة في معظم قطاعات النسيج توفر في كثير من الأحيان مواقع التحكم السلبي، ولكن يجب التحقق من هذا من جانب

المستخدم.

إن وجد تطعيم غير محدد، فعادةً ما يكون له مظهر منتشر. كما يمكن أيضاً ملاحظة تطعيم النسيج الضام بشكل متقطع في أقسام من الأنسجة المثبتة بالفورمالين بصورة مفرطة. استخدم الخلايا

السليمة لتفسير نتائج التطعيم. غالباً ما تُطخ الخلايا النخرية أو المحللة بصورة غير محددة\*. يُمكن رؤية النتائج الإيجابية الزائفة بسبب الارتباط غير المناعي للبروتينات أو منتجات تفاعل

الراسب. قد تحدث أيضاً بسبب الإنزيمات ذاتية النشوء مثل أشباه البيروكسيداز (كريات الدم الحمراء)، والبيروكسيداز ذاتي النشوء (سيروتروم C)، أو البيوتين ذاتي النشوء (مثل الكبد، الثدي،

المخ، الكلى) اعتماداً على نوع التطعيم المناعي المستخدم. للتمييز بين نشاط الإنزيم ذاتي النشوء أو غير محدد الارتباط بالإنزيمات من تفاعلية مناعية محددة، قد يتم تطعيم أنسجة المريض

الإضافي بشكل حصري بمولد لون الراسب أو مركبات إنزيمية (أفيدين-جاويتين، سترينيتافيدين، بوليمر موسوم) ومولد لون الراسب، على التوالي. إذا حدث ثلوث محدد في ضابط النسيج السلبي،

فيجب اعتبار النتائج التي تحتوي على عينات المريض غير صالحة.

## ضابط الكاشف السلبي

استخدم ضابط كاشف سلبي غير محدد بدلاً من الجسم المضاد الأولي مع قطاع من كل عينة من عينات المرضى لتقييم التطعيم غير المحدد والسماح بتفسير التطعيم المحدد عند موقع المستضد.

## نسيج المريض

فحص عينات المرضى المطلحة بـ NCL-L-ER-6F11/2 في النهاية. ينبغي تقييم كثافة التطعيم الإيجابي في سياق أي تطعيم غير محدد بالخلفية بخصوص ضابط الكاشف السلبي. كما هو

الحال مع أي اختبار كيميائي تسميحي مناعي، فإن النتيجة السلبية تعني أن المستضد لم يتم اكتشافه، وليس أن المستضد غير موجود في الخلايا / الأنسجة التي تم فحصها. إذا لزم الأمر، استخدم

لوحه أجسام مضادة لتحديد التفاعلات السلبية الزائفة.

## النتائج المتوقعة

### الأنسجة الطبيعية

يكشف المستنسخ 6F11 مستضد مستقبلات الإستروجين (ER) ألفا في نوى الخلايا التي تعبر عن مستويات عالية من مستقبلات الإستروجين، بما في ذلك نسبة من خلايا بطانة الرحم والمبيض

وعضل الرحم، وخلايا الأبقية التنديية الطبيعية. ويمكن أيضاً أن تتم رؤية التطعيم في مخاط اللوزتين ونسبة من الخلايا المفاوية المركزية المنتشرة. (إجمالي عدت الحالات العادية التي تم تقييمها =

136).

### الأنسجة غير الطبيعية

المستنسخ 6F11 أطيح 137/222 من الأورام التي تم تقييمها، بما في ذلك أورام الثدي (131/180)، وسرطان الغدة الدرقية الحليمي (3/4)، وأورام المبيض (2/4)، بما في ذلك 1/2 من

السرطان الغدي الكبيسي و 1/1 من سرطان الخلايا الظاهرية، والأورام الغليظة من أصل غير معروف (1/2)، وأورام الرئة (0/4)، وأورام الكبد (0/4)، وأورام المخ (0/2)، وسرطان الخلايا

الحرشفية بالمريء (0/2)، والسرطان الغدي بالمعدة (0/2)، وأورام الأنسجة الرخوة (0/2)، وسرطان الخلايا الحرشفية باللسان (0/2)، وسرطان الخلايا الكلوية (0/2)، وسرطان الخلايا

الحرشفية بعنق الرحم (0/2)، والأورام المنوية بالخصية (0/2)، وسرطان القولون الغدي (0/2)، وأورام المستقيم الغدية (0/2)، وأورام الجلد (0/2)، وسرطان الخلايا الحرشفية بالحنجرة

(0/1)، والأورام السرطانية غير النمطية بالغدة الصعترية (0/1).

(إجمالي عدد حالات الأورام التي تم تقييمها = 222).

يُنصح باستخدام NCL-L-ER-6F11/2 لتحديد وضع مستقبلات هرمون الإستروجين ألفا لأنسجة سرطان الثدي.

## القيود العامة

الكيمياء الهستولوجية المناعية هي عملية تشخيصية متعددة الخطوات تتكون من تدريب متخصص في اختيار الكواشف المناسبة؛ اختبار الأنسجة، والتثبيت، والمعالجة؛ إعداد شريحة IHC؛

وتفسير نتائج التطعيم.

يعتمد تطعيم الأنسجة على معالجة الأنسجة وإعدادها قبل التطعيم. قد يؤدي التجميد، أو التوابن، أو الغسيل، أو التجفيف، أو التسخين، أو التقسيم، أو التثبيت غير السليم أو التلوث مع الأنسجة أو

السوائل الأخرى إلى إنتاج نتاج صناعي، أو حابس للأجسام المضادة، أو نتائج سلبية زائفة. قد تكون هناك نتائج غير متناسقة بسبب وجود اختلافات في أساليب التثبيت والتضمين أو مخالفات

متأصلة داخل الأنسجة<sup>4</sup>.

قد يضر تضاد التطعيم المفرط أو غير المكتمل بالتفسير الصحيح للنتائج.

ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تطعيم أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والضوابط الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من

الاختبارات التشخيصية التي يُجرها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

يتم استخدام الأجسام المضادة من Leica Biosystems Newcastle Ltd، كما هو محدد، في الأقسام المجعدة أو المضمنة في البارافين مع متطلبات تثبيت محددة. قد يحدث تعبير عن

مستضد غير متوقع، خاصةً في الأورام. يجب أن يشمل التفسير السريري لأي قسم نسيج ملطخ التحليل المورفولوجي وتقييم الضوابط المناسبة.



1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcaval M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. Journal of Pathology 1997 183(2), 228–232.
6. Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Hewitt SM et al. Loss of antigenicity in stored sections of breast cancer tissue microarrays. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention. 2004; 13(4):667-672.
7. Diaz L, Sahin A and Sneige N. Immunohistochemical detection of estrogen receptor in breast cancer: a laboratory quality improvement study. United States and Canadian Academy of Pathology (Annual Meeting Abstracts March 22–28), 2003, 27A.
8. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery 2002 73(2), 403–405.
9. Khan SA, Yee KA, Kaplan C et al. Estrogen receptor alpha expression in normal human breast epithelium is consistent over time. International Journal of Cancer 2002 102(4), 334–337.
10. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery 2002 8(2), 69–73.
11. Leav I, Lau KM, Adams JY, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. American Journal of Pathology 2001 159(1), 79–92.
12. Braidman IP, Baris C, Selby PL et al. Preliminary report of impaired oestrogen receptor-alpha expression in bone, but no involvement of androgen receptor, in male idiopathic osteoporosis. Journal of Pathology 2000 192, 90–96.
13. de las Mulas JM, van Niel M, Millan Y et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. Domestic Animal Endocrinology 2000 18(1), 111–125.
14. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK et al. Oestrogen receptor expression in normal breast epithelium. European Journal of Cancer 2000 36(Suppl 4), S27–S28.
15. Leake R, Barnes D, Pinder S et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. Journal of Clinical Pathology 2000 53(8), 634–635.
16. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. Histopathology 2000 37(6), 536–545.
17. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. Journal of Clinical Oncology 1999 17(5), 1474–1481.
18. Kawabata K, Watanabe K, Ozaki S, et al.. Utility of the paraffin-embedded section method on the detection of estrogen receptor from breast cancer tissues - comparison of the paraffin-embedded section method (6F11 and 1D5) with frozen section (H222) and dextran-coated charcoal (DCC) ones. Rinsho Byori / Japanese Journal of Clinical Pathology. 1999; 47(8):767-773.
19. Katsetos CD, Stadnicka I, Boyd JC et al. Cellular Distribution of Retinoic Acid Receptor-α Protein in Serous Adenocarcinomas of Ovarian, Tubal, and Peritoneal Origin: Comparison with Estrogen Receptor Status. American Journal of Pathology 1998; 153(2):469-480.
20. Kaufmann O, Baume H and Diel M. Detection of oestrogen receptors in non-invasive and invasive transitional cell carcinomas of the urinary bladder using both conventional immunohistochemistry and the tyramide staining amplification (TSA) technique. Journal of Pathology 1998; 186(2):165-168.
21. Kaufmann O, Kother S and Diel M. Use of antibodies against estrogen and progesterone receptors to identify metastatic breast and ovarian carcinomas by conventional immunohistochemical and tyramide signal amplification methods. Modern Pathology 1998; 11(4):357-363.

#### تعديلات على العدد السابق

توصيات حول الاستخدام، والنتائج المتوقعة، وقائمة المراجع - العامة.

تاريخ الإصدار

03 سبتمبر 2019

Leica Biosystems Newcastle Ltd   
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242

Leica Biosystems Canada  
71 Four Valley Drive  
Concord, Ontario L4K 4V8  
Canada  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc  
1700 Leider Lane  
Buffalo Grove IL 60089  
USA  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne  
Pty Ltd  
495 Blackburn Road  
Mt Waverley VIC 3149  
Australia  
☎ +61 2 8870 3500