

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody for Bond™

Catalog No: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

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

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.

Bruksanvisning

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.

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 bozulmamasını kontrol edin.

www.LeicaBiosystems.com

Estrogen Receptor Clone 6F11

Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

Catalog No: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of human estrogen receptor (ER) in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by immunohistochemical staining using the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system). Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond specifically binds to the ER antigen located in the nucleus of ER positive normal and neoplastic cells.

ER (6F11) is indicated as an aid in the management, prognosis and prediction of therapy outcome of breast cancer. 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.

Summary and Explanation

ER content of breast cancer tissue is an important parameter in the prediction of prognosis and response to endocrine therapy. The introduction of monoclonal antibodies to ER has allowed the determination of receptor status of breast tumors to be carried out in routine histopathology laboratories. ER (6F11) is a mouse monoclonal antibody directed against the human estrogen receptor molecule. A prokaryotic recombinant protein, corresponding to the full length human ER molecule was used as the immunogen. ER (6F11) has been shown to react with a 66 kD protein from MCF-7 cell lysates via Western blot.⁴

Principle of Procedure

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation). Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond is a ready to use product that has been specifically optimized for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with Bond Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond is IHC Protocol F. Heat induced epitope retrieval is recommended using Bond Epitope Retrieval Solution 1 for 20 minutes. Bond Polymer Refine Detection utilizes a novel controlled polymerization technology to prepare polymeric HRP-linker antibody conjugates. The detection system avoids the use of streptavidin and biotin, and therefore eliminates nonspecific staining as a result of endogenous biotin.

Bond Polymer Refine Detection works as follows:

- The specimen is incubated with hydrogen peroxide to quench endogenous peroxidase activity
- Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond is applied
- A post primary antibody solution enhances penetration of the subsequent polymer reagent
- A poly-HRP anti-mouse/rabbit IgG reagent localizes the primary antibody
- The substrate chromogen, 3,3'-diaminobenzidine (DAB), visualizes the complex via a brown precipitate
- Hematoxylin (blue) counterstaining allows the visualization of cell nuclei.

Using Bond Polymer Refine Detection in combination with the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

Reagent Provided

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond is a mouse anti-human monoclonal antibody produced as a tissue culture supernatant, and supplied in Tris buffered saline with carrier protein, containing 0.35% ProClin™ 950 as a preservative.

Total volume = 7 mL / 30 mL.

Clone

6F11.

Immunogen

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

Specificity

Human estrogen receptor.

Subclass

IgG1.

Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 0.88 mg/L as determined by ELISA.

Method

ER (6F11) was raised against recombinant ER protein derived from the mRNA of MCF-7 cells. Balb/c mice were immunized with the resulting (His)6-ER recombinant antigen. Screening was conducted by ELISA, with ELISA positive supernatants tested in IHC on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of breast carcinoma of known receptor status. Colonies demonstrating positive immunohistochemical staining were cloned by limiting dilution.

Dilution and Mixing

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond is optimally diluted for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with Bond Polymer Refine Detection. Further dilution may result in loss of antigen staining. The user must validate any such change. 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. Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

Materials Required But Not Provided

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not use after the expiration date indicated on the container label.

The signs indicating contamination and/or instability of Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond are: turbidity of the solution, odor development, and presence of precipitate.

Return to 2–8 °C immediately after use.

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.

Precautions

- This product is intended for *in vitro* diagnostic use.
- The concentration of ProClin™ 950 is 0.35%. It contains the active ingredient 2-methyl-4-isothiazolin-3-one, and may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable gloves when handling reagents.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, www.LeicaBiosystems.com.
- 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 or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.
- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

Instructions for Use

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with Bond Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond is IHC Protocol F. Heat induced epitope retrieval is recommended using Bond Epitope Retrieval Solution 1 for 20 minutes.

Quality Control

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

Troubleshooting

Refer to reference 3 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Interpretation of Staining

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

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.
- Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

- The clinical interpretation of any positive or negative staining should be evaluated within the context of clinical presentation, morphology and other histopathological criteria. The clinical interpretation of any positive or negative staining should be complemented by morphological studies using proper positive and negative internal and external controls as well as other diagnostic tests. It is the responsibility of a qualified pathologist who is familiar with the proper use of IHC antibodies, reagents and methods to interpret all of the steps used to prepare and interpret the final IHC preparation.
- The manufacturer provides these antibodies/reagents at optimal dilution for use following the provided instructions for IHC on prepared tissue sections or cytologic preparation. Any deviation from recommended test procedures may invalidate declared expected results; appropriate controls must be employed and documented. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results.
- This product is not intended for use in flow cytometry. Performance characteristics have not been determined for flow cytometry. Tissues from persons infected with hepatitis B virus and containing hepatitis B surface antigen (HBsAg) may exhibit nonspecific staining with horseradish peroxidase.
- Reagents may demonstrate unexpected reactions in previously untested tissues. The possibility of unexpected reactions even in tested tissue groups cannot be completely eliminated due to biological variability of antigen expression in neoplasms, or other pathological tissues.
- Normal/nonimmune sera from the same animal source as secondary antisera used in blocking steps may cause false-negative or false-positive results due to autoantibodies or natural antibodies.
- False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by pseudoperoxidase activity (erythrocytes), endogenous peroxidase activity (cytochrome C), or endogenous biotin (e.g. liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used.

Product Specific Limitations

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond has been optimized at Leica Biosystems for use with Bond Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and protocol times.

Performance Characteristics

Reproducibility

Intra run reproducibility of staining with Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond was determined by staining 10 sections of the same tissue using Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 of 10 slides stained positively. All slides stained with similar staining specificity and intensity (varied by <1).

Inter-run reproducibility of staining with Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond was determined by staining 10 sections of the same tissue, on 3 different staining runs using Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 of 10 slides stained positively on each run. All slides stained with similar staining specificity and intensity (varied by <1).

Immunoreactivity

Table 1: Reactivity of Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond on Normal Tissues

Tissue	Number of Cases	Description of Staining	Staining Intensity (0-3+)
Adrenal	3	No staining of tissue elements	0
Brain, Cerebellum	3	No staining of tissue elements	0
Brain, Cerebrum	3	No staining of tissue elements	0
Breast	3	Duct nuclei in 2/3 tissues	3+
Cervix	3	Variable nuclei staining in the stratified squamous epithelium of the ectocervix, cervical stromal cells and glandular tissue	1–2+
Colon	3	No staining of tissue elements	0
Esophagus	3	No staining of tissue elements	0
Heart	3	No staining of tissue elements	0
Kidney	3	No staining of tissue elements	0
Liver	3	No staining of tissue elements	0
Lung	3	No staining of tissue elements	0
Mesothelial cells	1	No staining of tissue elements	0
Ovary	3	Faint variable nuclear staining of a small percentage of ovarian stromal cells. Positive nuclear staining of the <i>theca externa</i> branching into the ovarian stroma in a percentage of ovarian follicles.	1–2+

Tissue	Number of Cases	Description of Staining	Staining Intensity (0-3+)
Pancreas	3	No staining of tissue elements	0
Peripheral nerve	3	No staining of tissue elements	0
Pituitary	3	No staining of tissue elements	0
Prostate	3	No staining of tissue elements	0
Salivary/ Submandibular Gland	3	No staining of tissue elements	0
Skeletal Muscle	3	No staining of tissue elements	0
Skin	3	No staining of tissue elements	0
Small Intestine	3	No staining of tissue elements	0
Spleen	3	No staining of tissue elements	0
Stomach	3	No staining of tissue elements	0
Testis	3	No staining of tissue elements	0
Thymus	2	No staining of tissue elements	0
Thyroid	3	No staining of tissue elements	0
Tonsil	3	No staining of tissue elements	0
Uterus	3	Variable nuclei staining of endometrial/myometrial stromal cells	1+
Bone Marrow	3	No staining of tissue elements	0

Key to Staining Intensity:

- 0 - Negative
- 1+ - Weak
- 2+ - Moderate
- 3+ - Strong

Normal Tissues

Clone 6F11 detects the estrogen receptor alpha antigen in the nuclei of cells that express high levels of ER, a proportion of endometrial, ovarian and myometrial cells, and normal breast ductal cells.

Published Immunoreactivity

Characterization of ER (6F11) during antibody development included a comparative evaluation of a series of 55 sequential breast carcinomas. The tissues evaluated were routinely processed formalin-fixed, paraffin-embedded specimens stained using both ER (6F11) and ER (1D5). There was an observed concordance of staining for 50/55 cases⁴.

Estrogen receptor status was evaluated in 592 cases using routinely prepared paraffin-embedded tissue samples from primary breast carcinomas with ER (6F11) and anti-ER (1D5). Overall, ER (1D5) and ER (6F11) showed a 97.5% concordance rate¹⁶.

Further Information

Further information on immunostaining with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Date of Issue

27 June 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

Référence: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond est conçu pour l'identification qualitative en microscopie optique du récepteur des œstrogènes (ER) humain sur tissu fixé à la formaline, enrobé de paraffine, par marquage immunohistochimique automatisé BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III). Le clone de récepteur des œstrogènes 6F11 [ER (6F11)] se lie spécifiquement à l'antigène ER situé dans le noyau des cellules néoplasiques et saines positives pour ER.

ER (6F11) est indiqué pour faciliter la prise en charge et le pronostic du cancer du sein, et aider à prévoir l'issue du traitement.

L'interprétation clinique de tout marquage ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et des autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et Explications

La teneur en ER du tissu mammaire cancéreux est un paramètre important dans la prévision du pronostic et de la réponse au traitement endocrinien. La mise sur le marché d'anticorps monoclonaux spécifiques de l'ER a permis aux laboratoires d'histopathologie de déterminer en routine l'état des récepteurs des tumeurs mammaires. ER (6F11) est un anticorps monoclonal de souris spécifique de la molécule de récepteur des œstrogènes humain. Une protéine recombinante procaryote, correspondant à la molécule complète de l'ER humain, a servi d'immunogène. ER (6F11) réagit avec une protéine de 66 kD obtenue par Western blot à partir de lysats de cellules MCF-7¹.

Principe de la Procédure

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour établir la présence d'antigènes dans les tissus et les cellules (voir « Utilisation des réactifs BOND » dans votre manuel d'utilisation BOND). L'anticorps primaire Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond est un produit prêt à l'emploi, qui a été optimisé spécifiquement pour une utilisation sur l'automate BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) avec Bond Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond est IHC Protocol F. Une révélation d'épitopes par la chaleur est recommandée en utilisant Bond Epitope Retrieval Solution 1 durant 20 minutes. Bond Polymer Refine Detection fait appel à une technologie novatrice de polymérisation contrôlée pour préparer des conjugués d'anticorps liés à un polymère d'HRP. Le système de détection évite l'utilisation de streptavidine et de biotine et, par conséquent, élimine le marquage non spécifique provenant de la biotine endogène.

Bond Polymer Refine Detection fonctionne de la façon suivante:

- L'échantillon est incubé en présence de peroxyde d'hydrogène pour éliminer l'activité peroxydase endogène.
- Bond Ready-To-Use Primary Antibody Estrogen Receptor (6F11) est appliqué
- Une solution d'anticorps post-primaire favorise la pénétration du polymère
- Une IgG de lapin anti-souris conjuguée à un polymère d'HRP détecte l'anticorps primaire
- Le substrat chromogène, 3,3'-diaminobenzidine (DAB), permet la visualisation du complexe sous forme d'un précipité marron
- La coloration de contraste par l'hématoxyline (bleue) permet la visualisation des noyaux des cellules.

L'utilisation de Bond Polymer Refine Detection, en association avec l'automate BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III), réduit les possibilités d'erreurs humaines et de variations lors des dilutions, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

Réactifs Fournis

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond est un anticorps monoclonal anti-humain de souris, produit par surageant de culture de tissu et conditionné dans du tampon salin Tris avec une protéine de transport, contenant 0,35% de ProClin™ 950 comme conservateur.

Volume total = 7 mL / 30 mL.

Clone

6F11.

Immunogène

Protéine recombinante procaryote correspondant à la chaîne complète de la forme alpha de la molécule de récepteur des œstrogènes humain.

Spécificité

Récepteur des œstrogènes humain.

Sous-classe

IgG1.

Concentration Totale en Protéine

Environ 10 mg/ml.

Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 0,88 mg/l, déterminée par ELISA.

Méthode

ER (6F11) est dirigé contre une protéine d'ER recombinante produite à partir d'ARNm de cellules MCF-7. Des souris Balb/c ont été immunisées avec l'antigène recombinant (His)6-ER résultant. La sélection a été effectuée par ELISA. Les surnageants positifs par ELISA ont été testés par IHC sur des coupes de carcinomes du sein, fixées à la formaline et enrobées de paraffine, dont l'état des récepteurs était connu. Les colonies présentant un marquage immunohistochimique positif ont été clonées par dilution limitante.

Dilution et Mélange

L'anticorps primaire Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond présente une dilution optimale pour une utilisation sur l'automate BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) avec Bond Polymer Refine Detection. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de marquage antigénique. L'utilisateur doit valider une telle modification. Des différences dans la préparation des tissus et les procédés techniques au sein du laboratoire de l'utilisateur peuvent entraîner des variations importantes de résultats nécessitant de tester régulièrement des contrôles en interne. Voir « Utilisation des réactifs BOND » dans votre manuel d'utilisation BOND.

Matériel Nécessaire Mais Non Fournis

Voir "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation pour obtenir la liste complète du matériel nécessaire au traitement des échantillons et au marquage immunohistochimique avec BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

Conservation et Stabilité

Conserver entre 2–8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient.

Une turbidité de la solution, une présence d'odeurs ou de précipité sont des signes indicateurs d'une contamination et/ou d'une instabilité d'Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond.

Remettre à 2–8 °C immédiatement après usage.

Des conditions de stockage différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur.

Préparation des Spécimens

Une solution de formaline à 10 % tamponnée à pH neutre est recommandée comme fixateur pour les coupes de tissus enrobés de paraffine.

Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic *in vitro*.
- La concentration de ProClin™ 950 est 0,35%. Contient du 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one (principe actif) et peut entraîner des irritations de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies aériennes supérieures. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir une copie de la fiche technique des substances dangereuses, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou allez sur le site Web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels ayant été en contact avec eux, devraient être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates². Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.
- Renseignez-vous sur les règlements fédéraux, nationaux et locaux pour l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des réactifs qui peut entraîner un marquage non spécifique.
- Des durées ou températures de révélation ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

Mode d'emploi

L'anticorps primaire Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond a été développé pour être utilisé dans l'automate BOND avec Bond Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond est IHC Protocol F. Une révélation d'épitopes par la chaleur est recommandée en utilisant Bond Epitope Retrieval Solution 1 durant 20 minutes.

Contrôle Qualité

Voir "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND.

Identification des Problèmes

Voir la référence 3 pour connaître les actions correctrices.

Prenez contact avec votre distributeur local ou avec le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler tout marquage inattendu.

Interprétation du Marquage

Voir "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND.

Limites Générales

- L'immunohistochimie est une méthode diagnostique en plusieurs étapes qui suppose une formation spécialisée autour des points suivants : choix des bons réactifs ; sélection, fixation et traitement des tissus ; préparation de la lame d'IHC ; et interprétation des résultats de marquage.

- Le marquage des tissus dépend de la préparation et du traitement des tissus avant l'étape de marquage. Si les conditions de fixation, congélation, décongélation, lavage, séchage, chauffage ou coupe ne sont pas adéquates, ou en cas de contamination par d'autres tissus ou liquides, on peut observer des artefacts, un piégeage des anticorps ou des résultats faux négatifs. Des résultats non reproductibles peuvent être dus à des variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion à la paraffine, ou à des irrégularités inhérentes aux tissus.
- Une coloration de contraste excessive ou insuffisante risque de compromettre la bonne interprétation des résultats.
- L'interprétation clinique de tout marquage positif ou négatif doit être évaluée dans le contexte du tableau clinique et complétée par des critères morphologiques et d'autres critères d'appréciation en histopathologie. L'interprétation clinique de tout marquage positif ou négatif doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés, internes et externes, et positifs et négatifs. Il appartient à un pathologiste qualifié, au fait de la bonne utilisation des anticorps, réactifs et méthodes d'IHC, d'analyser l'ensemble des étapes de préparation et d'interpréter la préparation d'IHC finale.
- Le fabricant fournit ces anticorps/réactifs à une dilution optimale pour une utilisation suivant les instructions fournies pour l'IHC sur des coupes de tissus préparées ou une préparation cyto logique. Tout écart par rapport aux procédures de tests recommandées risque d'invalider les résultats ; des contrôles appropriés doivent être testés et documentés. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures de test recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients.
- Ce produit n'est pas conçu pour une utilisation en cytométrie en flux. Les performances n'ont pas été établies pour la cytométrie en flux.
- Les tissus provenant de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (antigène HBs) peuvent présenter un marquage non spécifique à la peroxydase de raifort.
- Des réactifs peuvent présenter des réactions inattendues sur des tissus précédemment non testés. La possibilité de réactions inattendues, même dans les groupes de tissus testés, ne peut pas être complètement écartée en raison de la variabilité biologique de l'expression des antigènes dans les tumeurs ou d'autres tissus pathologiques.
- Des sérums normaux/non immuns de même origine animale que les anti-sérums secondaires utilisés lors des étapes de blocage peuvent entraîner des résultats faux négatifs ou faux positifs en raison de la présence d'auto-anticorps ou d'anticorps naturels.
- Des résultats faux positifs peuvent être obtenus par liaison non immunologique de protéines ou de produits de réaction du substrat. Ces résultats peuvent également être dus à une activité pseudo-peroxydase (érythrocytes), une activité peroxydase endogène (cytochrome C) ou à la biotine endogène (p. ex., foie, sein, cerveau, rein) selon le type de marquage immunologique utilisé.

Limites Spécifiques du Produit

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond a été optimisé chez Leica Biosystems pour une utilisation avec Bond Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures de test recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole doivent être déterminées empiriquement, à cause des variations de fixation des tissus et d'efficacité du renforcement antigénique. Des contrôles négatifs des réactifs devraient être réalisés lors de l'optimisation des conditions de révélation et des durées du protocole.

Caractéristiques D'Exécution

Reproductibilité

La reproductibilité des marquages d'une expérience avec Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond a été déterminée en marquant 10 sections du même tissu avec Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 des 10 lames étaient marquées positivement. Toutes les lames montraient des marquages de spécificité et d'intensité semblables (variation <1).

La reproductibilité des marquages d'expériences successives avec Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond a été déterminée en marquant 10 sections du même tissu, en trois expériences avec Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 des 10 lames étaient marquées positivement lors de chaque expérience. Toutes les lames montraient des marquages de spécificité et d'intensité semblables (variation <1).

Immunoréactivité

Tableau 1 : Réactivité d'Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond sur des tissus sains

Tissu	Nombre de patients	Description du marquage	Intensité de marquage (0-3+)
Surrénales	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Cerveau, cervelet	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Cerveau, cervelet	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Seins	3	Noyaux des canaux galactophores dans 2/3 des tissus	3+
Col de l'utérus	3	Marquage variable des noyaux dans l'épithélium pavimenteux stratifié du col de l'utérus ectopique, des cellules du stroma cervical et du tissu glandulaire.	1-2+
Côlon	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0

Œsophage	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Cœur	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Reins	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Foie	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Poumons	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Cellules du mésothélium	1	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Ovaires	3	Faible marquage nucléaire variable d'un petit pourcentage de cellules du stroma de l'ovaire. Marquage nucléaire positif de la <i>thèque externe</i> se ramifiant dans le stroma de l'ovaire dans une partie des follicules ovariens.	1-2+
Pancréas	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Nerfs périphériques	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Hypophyse	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Prostate	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Glande salivaire/ sous-maxillaire	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Muscle squelettique	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Peau	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Intestin grêle	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Rate	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Estomac	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Testicules	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Thymus	2	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Thyroïde	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Amygdales	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0
Utérus	3	Marquage variable des noyaux des cellules du stroma de l'endomètre/du myomètre	1+
Moelle osseuse	3	Absence de marquage d'éléments tissulaires	0

Échelle d'intensité de marquage

0 - Négatif

1+ - Faible

2+ - Modéré

3+ - Fort

Tissus Normaux

Le clone 6F11 détecte l'antigène récepteur alpha des œstrogènes dans les noyaux des cellules qui expriment des taux élevés, une partie des cellules de l'endomètre, de l'ovaire et du myomètre, et les cellules saines des canaux galactophores.

Immunoréactivité Publiée

La caractérisation d'ER (6F11) durant la mise au point de l'anticorps comprenait une évaluation comparative d'une série de 55 carcinomes du sein sériés. Les tissus évalués étaient des échantillons traités, fixés à la formaline et enrobés de paraffine en routine, en utilisant ER (6F11) et ER (1D5). Les résultats de marquage concordaient chez 50 cas sur 55*.

L'état des récepteurs des œstrogènes a été évalué chez 592 patients en utilisant des échantillons de tissus enrobés de paraffine préparés en routine provenant de carcinomes de sein primaires, en utilisant ER (6F11) et anti-ER (1D5). Dans l'ensemble, le pourcentage de concordance entre ER (1D5) et ER (6F11) était de 97,5 %*.

Informations Complémentaires

Des informations complémentaires sur l'immunomarquage avec les réactifs BOND, les principes de la méthode, le matériel nécessaire, la préparation des échantillons, le contrôle qualité, les vérifications d'analyse, l'interprétation du marquage, les légendes et symboles sur les étiquettes et les limites générales, peuvent être obtenues dans "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND.

Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991;7(9). Référence à commander : M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4ème édition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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* 2003;27A (résumés de la conférence annuelle, 22–28 mars).
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y, et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002;73(2):403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002;8(2):69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000;18(1):111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan PA, et al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005:276–280.

Date de Publication

27 juin 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11

Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

N. catalogo: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Uso Previsto

Reagente per uso diagnostico *in vitro*.

L'uso dell'anticorpo monoclonale Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è previsto per l'identificazione qualitativa con microscopio ottico del recettore umano degli estrogeni (ER) in tessuto fissato in formalina, incluso in paraffina, con colorazione immunohistochimica, utilizzando il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III). L'anticorpo monoclonale Estrogen Receptor prodotto dal clone 6F11 [ER (6F11)] si lega in modo specifico all'antigene ER situato nel nucleo delle cellule normali e neoplastiche ER+.

L'ER (6F11) è indicato come un ausilio nella gestione, nella prognosi e nella previsione dell'esito della terapia del carcinoma mammario. L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione, o della sua assenza, deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli e deve essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Sommario e Spiegazione

La quantità di ER contenuta nel tessuto del carcinoma mammario è un parametro predittivo importante della prognosi e della risposta alla terapia ormonale. L'introduzione degli anticorpi monoclonali anti-ER ha consentito di introdurre la determinazione dello stato recettoriale dei tumori della mammella nella routine dei normali laboratori di istopatologia. L'ER (6F11) è un anticorpo monoclonale murino diretto contro la molecola del recettore umano degli estrogeni. Come immunogeno, è stata utilizzata una proteina ricombinante procarionica, corrispondente alla molecola completa dell'ER umano. Mediante la tecnica del Western blot, è stato dimostrato che l'ER (6F11) reagisce con una proteina di 66 kD derivata da lisati di cellule MCF-7*.

Principio Della Procedura

Grazie alle tecniche di immunohistochimica, è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND). L'anticorpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è un prodotto pronto per l'uso che è stato ottimizzato in modo specifico per l'impiego nel sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) in associazione con il Bond Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è l'IHC Protocol F. Per lo smascheramento termoindotto dell'epitopo si consiglia l'uso della Bond Epitope Retrieval Solution 1 per 20 minuti. Il Bond Polymer Refine Detection utilizza un'innovativa tecnologia di polimerizzazione controllata per la preparazione dei coniugati di anticorpi HRP-linker polimerici. Evitando il ricorso alla streptavidina e alla biotina, il sistema di rivelazione ovvia al fenomeno della colorazione non specifica dovuta alla biotina endogena.

Il Bond Polymer Refine Detection si basa sul seguente principio di funzionamento:

- Incubazione del campione con perossido di idrogeno per inibire l'attività perossidasi endogena
- Applicazione Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond
- Una soluzione utilizzabile dopo l'anticorpo primario favorisce la penetrazione del successivo reagente polimerico
- Localizzazione dell'anticorpo primario tramite un reagente anti-IgG di topo/coniglio HRP-polimerico
- Il substrato cromogeno 3,3'-diaminobenzidina (DAB), evidenzia il complesso tramite un precipitato di color marrone
- La controcolorazione con ematosilina (blu) permette la visualizzazione dei nuclei cellulari

Il ricorso al Bond Polymer Refine Detection in associazione con il sistema automatizzato BOND (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) riduce la possibilità di errore umano e la variabilità insita nelle operazioni di diluizione del singolo reagente e di pipettaggio e applicazione manuale del reagente.

Reagenti Forniti

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è un anticorpo monoclonale murino anti-umano prodotto come supernatante di coltura cellulare e fornito in una soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente 0,35% di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 mL / 30 mL.

Clone

6F11.

Immunogeno

Proteina ricombinante procarionica corrispondente alla forma alfa completa della molecola del ER umano.

Specificità

Recettore umano degli estrogeni.

Sottoclasse

IgG1.

Concentrazione Proteica Totale

Circa 10 mg/ml.

Concentrazione Dell'anticorpo

Uguale o superiore a 0,88 mg/l, determinata mediante ELISA.

Metodo

L'ER (6F11) è stato prodotto contro la proteina ER derivata dall'mRNA di cellule MCF-7. Topi Balb/c sono stati immunizzati con l'antigene ricombinante (His)6-ER ottenuto. È stato effettuato uno screening con il metodo ELISA, esaminando, mediante l'IHC, i surnatanti positivi all'ELISA su sezioni di carcinoma mammario fissate in formalina, incluse in paraffina, con stato recettoriale noto. Le colonie che hanno presentato una colorazione immunostochimica positiva sono state clonate con la procedura detta "limiting dilution".

Diluizione e Miscelazione

La diluizione dell'anticorpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è stata ottimizzata per l'uso con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) in associazione con il Bond Polymer Refine Detection. Un'ulteriore diluizione può comportare una perdita della colorazione dell'antigene, per cui l'utente deve validare qualunque modifica in tal senso. Differenze nel trattamento dei tessuti e nelle procedure tecniche del laboratorio possono produrre una notevole variabilità nei risultati, tale da richiedere l'esecuzione periodica di controlli interni. Consultare l'"Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND.

Materiale Necessario Non Fornito

Per un elenco completo dei materiali necessari per il trattamento del campione e la colorazione immunostochimica con il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III), consultare l'"Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND.

Conservazione e Stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

I segni di contaminazione e/o instabilità dell'Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond sono: torbidità della soluzione, formazione di odori e presenza di un precipitato.

Riportare a 2–8 °C immediatamente dopo l'uso.

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate.

Preparazione dei Campioni Biologico

Per le sezioni di tessuto incluse in paraffina si raccomanda l'uso di formalina tamponata neutra al 10% come fissativo.

Precauzioni

- Il prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.
- La concentrazione del ProClin™ 950 è 0,35%. Esso contiene il principio attivo 2-metil-4-isotiazolin-3-one e può causare irritazione alla cute, agli occhi, alle membrane mucose e alle alte vie respiratorie. Per la manipolazione dei reagenti usare guanti monouso.
- Una copia della Scheda di sicurezza può essere richiesta al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems o, in alternativa, visitando il sito di Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.
- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni². Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la pelle e le membrane mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con superfici sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale vigente per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono fornire risultati erranei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è stato sviluppato per essere utilizzato con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) in associazione con il Bond Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è l'IHC Protocol F. Per lo smascheramento termoindotto dell'epitopo si consiglia l'uso della Bond Epitope Retrieval Solution 1 per 20 minuti.

Controllo di Qualità

Consultare l'"Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND.

Soluzione Problemi

Per le azioni di rimedio consultare il riferimento bibliografico n. 3.

Per riferire una colorazione inusuale rivolgersi al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems.

Interpretazione della Colorazione

Consultare l'"Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND.

Limitazioni Generali

- L'immunostochimica è una tecnica diagnostica multistadio che richiede un addestramento specifico per la selezione dei reagenti appropriati, per la selezione, la fissazione e il trattamento dei tessuti, per la preparazione del vetrino per IHC e per l'interpretazione dei risultati della colorazione.

- La colorazione del tessuto dipende dalla manipolazione e dal trattamento del tessuto prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'essiccazione, il riscaldamento e il sezionamento eseguiti in modo non corretto, oppure la contaminazione con altri tessuti o fluidi, possono produrre artefatti, intrappolare l'anticorpo o portare a risultati falsamente negativi. Risultati incoerenti possono derivare da modifiche nei metodi di fissazione e di inclusione o a irregolarità intrinseche del tessuto.
- Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.
- L'interpretazione clinica di qualunque colorazione positiva o negativa deve essere valutata nel contesto della presentazione clinica, della morfologia e di altri criteri istopatologici. L'interpretazione clinica di qualunque colorazione positiva o negativa deve avvalersi di studi morfologici che prevedano l'utilizzo di adeguati controlli positivi e negativi, interni ed esterni nonché di altri test diagnostici. Un patologo qualificato, esperto nel corretto uso di anticorpi, reagenti e metodi IHC, è responsabile dell'interpretazione di tutti i passaggi utilizzati per preparare e interpretare il preparato IHC finale.
- Il produttore fornisce anticorpi e reagenti alla diluizione ottimale per l'utilizzo, secondo le istruzioni allegate per l'IHC, sulle sezioni di tessuto preparate o sulle preparazioni citologiche. Qualsiasi modifica alle procedure raccomandate per il test può invalidare i risultati indicati come attesi; è necessario impiegare e documentare controlli adeguati. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti.
- Non è previsto l'uso di questo prodotto nella citometria a flusso. Le caratteristiche della sua prestazione nella citometria a flusso non sono state determinate.
- I tessuti dei soggetti infettati dal virus dell'epatite B e contenenti l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) possono mostrare una colorazione non specifica con la perossidasi di rafano.
- I reagenti possono mostrare reazioni inattese nei tessuti non precedentemente sottoposti a test. La possibilità di reazioni inattese non può essere del tutto esclusa anche nei gruppi di tessuto testati, a causa della variabilità biologica dell'espressione antigenica nelle neoplasie o in altri tessuti patologici.
- Sieri normali o non immuni dalla stessa fonte animale, come gli antisieri secondari utilizzati come bloccanti, possono causare risultati falsi negativi o falsi positivi per la presenza di autoanticorpi o di anticorpi naturali.
- Si possono osservare risultati falsamente positivi a causa del legame non immune di proteine o per la formazione di prodotti di reazione del substrato. Falsi positivi possono essere causati anche dall'attività della pseudoperossidasi (eritrociti), dall'attività della perossidasi endogena (citocromo C) o dalla biotina endogena (es. fegato, mammella, cervello, rene) a seconda del tipo di immunocolorazione utilizzato.

Limitazioni Specifiche del Prodotto

L'Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è stato ottimizzato da Leica Biosystems per l'uso con il Bond Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi del protocollo possono variare in base alle variazioni nella fissazione del tessuto e nell'efficienza del potenziamento dell'antigene e devono essere definiti in modo empirico. Nell'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo si devono impiegare dei controlli negativi del reagente.

Caratteristiche della Prestazione

Riproducibilità

La riproducibilità intra-ciclo della colorazione con Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è stata definita colorando 10 sezioni dello stesso tessuto utilizzando il Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 vetrini su 10 si sono colorati positivamente. La colorazione di tutti i vetrini ha mostrato la stessa specificità e la stessa intensità (variabilità <1).

La riproducibilità inter-cicli della colorazione con Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond è stata definita colorando 10 sezioni dello stesso tessuto in 3 diversi cicli di colorazione, utilizzando il Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 vetrini su 10 si sono colorati positivamente in ciascun ciclo. La colorazione di tutti i vetrini ha mostrato la stessa specificità e la stessa intensità (variabilità <1).

Immunoreattività

Tabella 1: reattività dell'Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond sui tessuti normali

Tessuto	Numero di casi	Descrizione della colorazione	Intensità della colorazione (0-3+)
Surrenale	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Cervello/Cervelletto	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Cervello, telencefalo	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Mammella	3	Nuclei dei dotti in 2/3 dei tessuti	3+
Cervice	3	Colorazione nucleare variabile dell'epitelio squamoso stratificato dell'esocervice, delle cellule cervicali stromali e del tessuto ghiandolare	1-2+
Colon	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Esofago	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Cuore	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0

Rene	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Fegato	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Polmone	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Cellule mesoteliali	1	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Ovaio	3	Debole colorazione nucleare variabile di una piccola percentuale di cellule stromali ovariche. Colorazione nucleare positiva della ramificazione della <i>teca esterna</i> nello stroma ovarico in una percentuale di follicoli.	1-2+
Pancreas	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Nervo periferico	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Ipofisi	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Prostata	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Ghiandola salivare/ sottomandibolare	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Muscolo scheletrico	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Cute	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Intestino tenue	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Milza	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Stomaco	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Testicolo	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Timo	2	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Tiroide	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Tonsille	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0
Utero	3	Colorazione nucleare variabile delle cellule stromali dell'endometrio/miometrio	1+
Midollo osseo	3	Nessuna colorazione degli elementi tissutali	0

Legenda per l'intensità della colorazione:

- 0 - negativa
- 1+ - debole
- 2+ - moderata
- 3+ - forte

Tessuti Normali

Il Clone 6F11 rivela la presenza dell'antigene del recettore degli estrogeni di tipo alfa nei nuclei delle cellule che esprimono elevati livelli di ER, cioè una frazione di cellule endometriali, ovariche o miometriali e le cellule duttali della mammella normale.

Immunoreattività Pubblicata

Per la caratterizzazione dell'ER (6F11) nel corso della produzione dell'anticorpo è stata effettuata una valutazione comparativa di una serie di 55 carcinomi mammari consecutivi. I tessuti valutati erano campioni sottoposti come di routine al fissaggio in formalina e all'inclusione in paraffina, colorati con l'ER (6F11) e l'ER (1D5). In 50/55 casi è stata osservata una concordanza tra le colorazioni⁴.

Lo stato del recettore degli estrogeni è stato valutato in 592 casi utilizzando campioni di tessuto di carcinoma mammario primitivo preparati come di routine e inclusi in paraffina, colorati con l'ER (6F11) e l'anti-ER (1D5). Complessivamente è stata osservata una concordanza del 97,5% tra l'ER (1D5) e l'ER (6F11)⁹.

Ulteriori Informazioni

Altre informazioni sull'immunocoloreazione con i reagenti BOND si trovano in "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND, ai titoli Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo di qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Leggenda dei simboli e delle etichette e Limitazioni generali.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Data di Pubblicazione

27 giugno 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11

Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

Bestellnr.: PA1051 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Verwendungszweck

Dieses Reagenz ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

Der monoklonale Antikörper Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond ist für den qualitativen lichtmikroskopischen Nachweis des humanen Östrogenrezeptors (ER) in formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe durch immunhistochemische Färbung mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) vorgesehen. Der Östrogenrezeptor-Klon 6F11 bindet spezifisch an das ER-Antigen im Zellkern von normalen und neoplastischen ER-positiven Zellen.

ER (6F11) wird als Hilfe bei der Verwaltung, der Prognose und der Vorhersage des Therapieergebnisses bei Brustkrebs eingesetzt. Die klinische Auswertung der An- oder Abwesenheit einer Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und sollte im Zusammenhang mit der Krankengeschichte eines Patienten und anderen diagnostischen Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erläuterung

Der ER in Brustkrebsgewebe ist ein wichtiger Parameter bei der Vorhersage der Prognose und Antwort auf eine endokrine Therapie. Die Einführung monoklonaler Antikörper gegen ER hat die routinemäßige Bestimmung des Rezeptorstatus von Brusttumoren in Histopathologielaboren ermöglicht. ER (6F11) ist ein monoklonaler Mausantikörper gegen das humane Östrogenrezeptormolekül. Als Immunogen wurde ein prokaryotisches rekombinantes Protein benutzt, das der gesamten Länge des humanen ER-Moleküls entspricht. In Western Blots wurde gezeigt, dass ER (6F11) mit einem 66-kD-Protein aus MCF-7-Zelllysaten reagiert¹.

Verfahrensgrundlage

Immunhistochemische Methoden können dazu benutzt werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für die Verwendung mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Verbindung mit dem Bond Polymer Refine Detection optimiert wurde. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primärantikörper Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond ist das IHC Protocol F. Das hitzeinduzierte Epitop-Retrieval wird unter Verwendung der Bond Epitope Retrieval Solution 1 für 20 Minuten empfohlen. Bond Polymer Refine Detection verwendet eine neuartige kontrollierte Polymerisationstechnologie zur Herstellung von HRP-Linker-Antikörperkonjugaten. Das Nachweissystem verzichtet auf die Verwendung von Streptavidin und Biotin, wodurch unspezifische Färbungen aufgrund von endogenem Biotin ausgeschlossen werden.

Bond Polymer Refine Detection funktioniert wie folgt:

- Das Präparat wird mit Wasserstoffperoxid inkubiert, um die endogene Peroxidaseaktivität zu blockieren.
- Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond wird aufgetragen
- Eine nach dem Primärantikörper aufgetragene Lösung verstärkt die Penetration des nachfolgenden Polymerreagenzes
- Ein Poly-HRP-Anti-Maus/Kaninchen-IgG-Reagenz lokalisiert den Primärantikörper
- Das Substratchromogen 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) macht den Komplex als braunes Präzipitat sichtbar
- Eine Gegenfärbung mit Hämatoxylin (blau) ermöglicht die Sichtbarmachung der Zellkerne.

Die Verwendung des Bond Polymer Refine Detection in Verbindung mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) reduziert die Wahrscheinlichkeit menschlicher Fehler und die natürlichen Schwankungen, die beim individuellen Verdünnen von Reagenzien, manuellen Pipettieren und Auftragen der Reagenzien auftreten.

Mitgelieferte Reagenzien

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond ist ein monoklonaler Maus-anti-Human Antikörper, der aus Zellkulturüberstand hergestellt wurde, in Tris-gepufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird sowie 0,35% ProClin™ 950 als Konservierungsmittel enthält.

Gesamtvolumen = 7 mL / 30 mL.

Klon

6F11.

Immunogen

Ein prokaryotisches rekombinantes Protein, welches der gesamten Länge der Alpha-Form des humanen ER moleküls entspricht.

Spezifität

Humaner Östrogenrezeptor.

Subklasse

IgG1.

Gesamtproteinkonzentration

Ca. 10 mg/ml.

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 0,88 mg/l, bestimmt mit ELISA.

Methode

ER (6F11) wurde gegen ein rekombinantes ER-Protein entwickelt, das aus der mRNA von MCF-7-Zellen gewonnen wurde. Balb/c-Mäuse wurden mit dem daraus resultierenden rekombinanten (His)6-ER-Antigen immunisiert. Das Screening wurde mit einem ELISA durchgeführt. ELISA-positive Kulturüberstände wurden per IHC an formalinfixierten Paraffin-Gewebeschnitten von Mammakarzinomen mit bekanntem Rezeptorstatus getestet. Zellkolonien, die eine positive immunhistochemische Färbung aufwiesen, wurden durch limitierende Verdünnung geklon.

Verdünnen und Mischung

Der Primärantikörper Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond ist optimal für den Gebrauch mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Verbindung mit dem Bond Polymer Refine Detection verdünnt. Eine weitere Verdünnung kann zu einem Verlust der Antigenfärbung führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden. Unterschiede in der Gewebeerarbeitung und den technischen Prozeduren im Labor des Anwenders können zu signifikanten Variationen der Ergebnisse führen, weshalb regelmäßig laborinterne Kontrollen durchgeführt werden sollten. Sehen Sie dazu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Erforderliche, Aber Nicht Mitgelieferte Materialien

Eine vollständige Liste der Materialien, die für die Probenbehandlung und die immunhistochemische Färbung mit dem BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) benötigt werden, befindet sich im Abschnitt "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälterkett angegeben Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität des Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond hinweisen, sind: eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung sowie das Vorhandensein von Präzipitat.

Unmittelbar nach Gebrauch wieder bei 2–8 °C aufbewahren.

Andere als die oben angegebenen Lagerungsbedingungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Probenvorbereitung

Als Fixiermittel wird 10% neutralgepuffertes Formalin für Paraffin-Gewebeschnitte empfohlen.

Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProCin™ 950 beträgt 0,35%. Es enthält 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on als aktiven Bestandteil und kann Reizungen der Haut, Augen, Schleimhäute und oberen Atemwege verursachen. Tragen Sie beim Umgang mit Reagenzien Einweghandschuhe.
- Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblattes erhalten Sie von Ihrer örtlichen Vertriebsfirma, von der Regionalniederlassung von Leica Biosystems oder über die Webseite von Leica Biosystems unter www.LeicaBiosystems.com
- Behandeln Sie Präparate vor und nach der Fixierung sowie sämtliche damit in Berührung kommenden Materialien so, als ob sie Infektionen übertragen könnten und entsorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen². Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut oder Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell toxischer Bestandteile die behördlichen und örtlichen Vorschriften.
- Mikrobielle Kontaminationen sollten minimiert werden, da es sonst zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen kommen kann.
- Die Verwendung anderer als die angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Gebrauchsanweisung

Der Primärantikörper Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond wurde für den Gebrauch mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Verbindung mit dem Bond Polymer Refine Detection entwickelt. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primärantikörper Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond ist das IHC Protocol F. Das hitzeinduzierte Epitop-Retrieval wird unter Verwendung der Bond Epitope Retrieval Solution 1 für 20 Minuten empfohlen.

Qualitätskontrolle

Sehen Sie hierzu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Fehlersuche

Maßnahmen zur Abhilfe beim Auftreten von Fehlern finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färbeergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

Deutung der Färbung

Sehen Sie hierzu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Allgemeine Beschränkungen

- Immunhistochemie ist ein mehrstufiges diagnostisches Verfahren, das eine spezielle Ausbildung in der Auswahl der passenden Reagenzien, der Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung, der Präparation des IHC-Objektträgers und der Interpretation der Färbeergebnisse voraussetzt.

- Die Gewebefärbung ist abhängig von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor der Färbung. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch negativen Ergebnissen führen. Abweichende Ergebnisse können durch Variationen der Fixier- und Einbettungsmethoden oder durch Unregelmäßigkeiten im Gewebe selbst entstehen.
- Eine übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Auswertung der Ergebnisse gefährden.
- Die klinische Auswertung einer positiven oder negativen Färbung sollte im Rahmen der klinischen Präsentation, Morphologie und anderen histopathologischen Kriterien vorgenommen werden. Die klinische Auswertung einer positiven oder negativen Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten positiven und negativen internen und externen Kontrollen sowie durch andere diagnostische Tests ergänzt werden. Es liegt in der Verantwortung eines mit der korrekten Anwendung von IHC-Antikörpern, -Reagenzien und -Methoden vertrauten qualifizierten Pathologen, sämtliche Schritte bei der Herstellung und Auswertung der endgültigen IHC-Präparation zu beurteilen.
- Diese Antikörper/Reagenzien wurden vom Hersteller optimal für eine Verwendung zur IHC auf Gewebeschnitten oder zytologischen Präparaten gemäß den zur Verfügung gestellten Anleitungen verdünnt. Abweichungen von den empfohlenen Testverfahren können zu anderen als den angegebenen erwarteten Ergebnissen führen, weshalb geeignete Kontrollen verwendet und dokumentiert werden müssen. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen.
- Dieses Produkt ist nicht zur Verwendung in der Durchflusszytometrie vorgesehen. Leistungseigenschaften für die Durchflusszytometrie wurden nicht bestimmt.
- Gewebe von Personen mit einer Hepatitis-B-Virusinfektion, die das Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können eine unspezifische Färbung mit Meerrettichperoxidase aufweisen.
- In zuvor ungetesteten Geweben können die Reagenzien unerwartete Reaktionen zeigen. Das Auftreten unerwarteter Reaktionen selbst in getesteten Gewebegruppen kann aufgrund von biologischen Variationen in der Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben nicht vollständig ausgeschlossen werden.
- Normale/nicht immunisierte Sera aus derselben Tierquelle wie die sekundären Antisera, die in den Blockierungsschritten verwendet werden, können aufgrund von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern falsch negative oder falsch positive Ergebnisse verursachen.
- Aufgrund von nicht-immunologischen Bindungen von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten kann es zu falsch positiven Ergebnissen kommen. Diese können auch, abhängig von der benutzten Immunfärbung, durch Pseudoperoxidaseaktivität (Erythrozyten), endogene Peroxidaseaktivität (Cytochrom C) oder endogenem Biotin (z.B. Leber, Brust, Gehirn, Niere) verursacht werden.

Produktspezifische Einschränkungen

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem Bond Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Verfahrenszeiten können aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen verwendet werden.

Leistungseigenschaften

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Färbung mit dem Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond innerhalb desselben Versuchs wurde durch Färbung von 10 Schnitten desselben Gewebes mit dem Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800) bestimmt. 10 von 10 Objektträgern wurden positiv gefärbt. Alle Objektträger wurden mit ähnlicher Spezifität und Intensität gefärbt (Variation <1).

Die Reproduzierbarkeit der Färbung mit dem Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond in verschiedenen Versuchen wurde durch Färbung von 10 Schnitten desselben Gewebes mit dem Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800) in drei verschiedenen Färbegängen bestimmt. 10 von 10 Objektträgern wurden in allen Färbegängen positiv gefärbt. Alle Objektträger wurden mit ähnlicher Spezifität und Intensität gefärbt (Variation <1).

Immunreaktivität

Tabelle 1: Reaktivität von Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond mit normalen Geweben

Gewebe	Anzahl Fälle	Beschreibung der Färbung	Färbeintensität (0-3+)
Nebenniere	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Gehirn, Kleinhirn	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Gehirn, Großhirn	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Brust	3	Kerne von Duktuszellen in 2/3 Geweben	3+
Zervix	3	Variable Färbung von Zellkernen im Plattenepithel des Ektozervix, in zervikalen Stromazellen und Drüsengewebe	1-2+
Kolon	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Ösophagus	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0

Herz	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Niere	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Leber	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Lunge	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Mesothelzellen	1	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Ovar	3	Schwache variable Färbung des Zellkerns bei einem kleinen Prozentsatz ovarieller Stromazellen. Positive Färbung der Zellkerne der <i>Theca externa</i> , welche sich bei einem Teil der Eifollikel in das ovarielle Stroma verzweigt.	1-2+
Pankreas	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Periphere Nerven	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Hypophyse	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Prostata	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Speichel-/ Submandibular Drüse	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Skelettmuskel	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Haut	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Dünndarm	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Milz	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Magen	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Hoden	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Thymus	2	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Schilddrüse	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Mandel	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0
Uterus	3	Variable Färbung von Zellkernen endometrialer/ myometrialer Stromazellen	1+
Knochenmark	3	Keine Färbung von Gewebeteilen	0

Schlüssel zur Färbeintensität:

- 0 - Negativ
- 1+ - Schwach
- 2+ - Moderat
- 3+ - Stark

Normale Gewebe

Klon 6F11 erkennt das Östrogenrezeptor-Alpha-Antigen in den Zellkernen von Zellen mit einer großen Anzahl ER, einem Teil endometrialer, ovarieller und myometrialer Zellen sowie normalen Milchgangzellen.

Veröffentlichte Immunreaktivität

Die Charakterisierung von ER (6F11) während der Antikörperentwicklung beinhaltete eine vergleichende Untersuchung einer Reihe von 55 sequenziellen Mammakarzinomen. Bei den untersuchten Geweben handelte es sich um routinemäßig verarbeitete formalinfixierte Paraffin-Gewebepräparate, die sowohl mit ER (6F11) als auch ER (1D5) gefärbt wurden. Eine Übereinstimmung der Färbung wurde in 50/55 Fällen beobachtet¹.

Der Östrogenrezeptorstatus wurde in 592 Fällen routinemäßig präparierter Paraffin-Gewebeproben primärer Mammakarzinome mit ER (6F11) und Anti-ER (1D5) untersucht. Insgesamt zeigten ER (1D5) und ER (6F11) eine Übereinstimmungsrate von 97,5%¹⁶.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit BOND-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten Grundlegende Vorgehensweise, Erforderliches Material, Probenvorbereitung, Qualitätskontrolle, Assay-Verifizierung, Deutung der Färbung, Schlüssel der Symbole auf den Etiketten und Allgemeine Einschränkungen in "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 28. February 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Bestellnummer M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Stevens. Theory and Practice of Histological Techniques. 4. Auflage. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N et al. Piggot et al. New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *Journal of Pathology* 1997; 183(2), 228–232.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et. al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Ausgabedatum

27 Juni 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™ Catálogo N°.: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Indicaciones de Uso

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El anticuerpo monoclonal Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond está destinado a utilizarse en la identificación cualitativa por microscopía óptica del receptor de estrógeno (ER) humano en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina, mediante tinción histoquímica usando el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). El clon de receptor de estrógeno 6F11 [ER(6F11)] se une específicamente al antígeno ER ubicado en el núcleo de las células ER positivas normales y neoplásicas.

ER (6F11) está indicado como ayuda en la gestión, pronóstico y predicción de los resultados de la terapia del cáncer de mama. La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de ésta debe complementarse con estudios morfológicos usando controles adecuados, y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y Explicación

El contenido en ER del tejido de cáncer de mama es un parámetro importante en la predicción del pronóstico y la respuesta a la terapia endocrina. La introducción de anticuerpos monoclonales en ER ha permitido realizar la determinación rutinaria del estado del receptor en tumores de mama, en laboratorios de histopatología. ER (6F11) es un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra la molécula del receptor de estrógeno humano. Como inmunógeno se utilizó una proteína recombinante procaridiótica, que corresponde a la molécula completa de ER humano. Se ha demostrado que ER (6F11) reacciona con una proteína de 66 kD procedente de lisados de células MCF-7 al usar Western blot[†].

Principio del Procedimiento

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden ser utilizadas para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Uso de reactivos BOND" en la documentación de usuario suministrada por BOND). El anticuerpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso en el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con Bond Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond es IHC Protocol F. Se recomienda la exposición de epítomos inducida por calor usando Bond Epitope Retrieval Solution 1 durante 20 minutos. Bond Polymer Refine Detection utiliza una nueva tecnología de polimerización controlada para preparar conjugados poliméricos de anticuerpos con ligante HRP. El sistema de detección evita el uso de estreptavidina y biotina, y por lo tanto elimina la tinción inespecífica como resultado de la biotina endógena.

Bond Polymer Refine Detection funciona de la manera siguiente:

- La muestra se incuba con agua oxigenada para sofocar la actividad peroxidásica endógena
- Se aplica Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond
- Una solución de anticuerpo postprimario mejora la penetración del reactivo polimérico subsiguiente
- Un reactivo anti-IgG de ratón y conejo poli-HRP localiza el anticuerpo primario
- El cromógeno del sustrato, 3,3'-diaminobencidina (DAB), permite visualizar el complejo al formar un precipitado marrón
- La tinción de contraste con hematoxilina (azul) permite la visualización de los núcleos celulares.

El uso de Bond Polymer Refine Detection en combinación con el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) reduce la posibilidad de error humano y la variabilidad inherente resultado de la dilución individual del reactivo, el pipeteado manual y la aplicación del reactivo.

Reactivo Suministrados

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond es un anticuerpo monoclonal antihumano de ratón que se produce como sobrenadante en cultivos de tejido, y se suministra en solución salina tamponada de Tris con proteína portadora, que contiene el 0,35% de ProCiin™ 950 como conservante.

Volumen total = 7 mL / 30 mL.

Clon

6F11.

Inmunógeno

Proteína recombinante procaridiótica correspondiente a la longitud completa de la forma alfa de la molécula del ER estrógeno humano.

Especificidad

Receptor de estrógeno humano.

Subclase

IgG1.

Concentración Total de Proteína

Aprox. 10 mg/mL.

Concentración de Anticuerpos

Mayor o igual que 0,88 mg/L según lo determinado mediante ELISA.

Método

Se generó ER (6F11) contra proteína ER recombinante derivada de ARNm de células MCF-7. Se inmunizaron ratones Balb/c con el antígeno recombinante (His)6-ER resuspendido. Se realizó una identificación mediante ELISA, analizándose los sobrenadantes positivos para ELISA mediante el IHC en cortes fijados en formalina e incluidos en parafina de carcinoma de mama, el estado de cuyos receptores era conocido. Las colonias que mostraban tinción inmunohistoquímica positiva se clonaron mediante dilución limitante.

Dilución y Mezcla

El anticuerpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond se presenta en dilución óptima para su uso en el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con Bond Polymer Refine Detection. Una dilución mayor puede provocar la pérdida de tinción del antígeno. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo. Las diferencias en el procesado de tejidos y en los procedimientos técnicos en el laboratorio del usuario pueden provocar una variabilidad significativa en los resultados, lo que hace necesaria la realización periódica de controles internos. Consulte "Uso de reactivos BOND" en la documentación del usuario de BOND.

Material Necesario Pero No Suministrado

Consulte, en el apartado "Uso de reactivos BOND" de la documentación de usuario de BOND, la lista completa del material necesario para el tratamiento de las muestras y la tinción inmunohistoquímica cuando se utiliza el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

Almacenamiento y Estabilidad

Debe conservarse a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta.

Los signos que indican contaminación, inestabilidad o ambas circunstancias en Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond son: turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado.

Volver a guardar a 2–8° C inmediatamente después de su uso.

Si las condiciones de conservación son diferentes de las especificadas, el usuario debe realizar las comprobaciones necesarias.

Preparación de Las Muestras

El fijador recomendado es formalina en tampón neutro al 10% para cortes de tejido incrustados en parafina.

Precauciones

- Este producto es para uso diagnóstico *in vitro*.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35%. Contiene el principio activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, que puede producir irritación en la piel, ojos, mucosas y tracto respiratorio superior. Lleve siempre guantes desechables cuando manipule los reactivos.
- Si desea obtener un ejemplar de la Hoja de datos de seguridad de los materiales, póngase en contacto con su distribuidor o con la oficina regional de Leica Biosystems, o visite la página Web de Leica Biosystems en www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben ser eliminadas con las precauciones correspondientes². No pipeteo nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si algún reactivo o alguna muestra entra en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa federal, nacional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.
- Minimice la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede producir un aumento de las tinciones inespecíficas.
- Los tiempos de exposición e incubación, y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de Uso

El anticuerpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond se ha desarrollado para su uso en el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con Bond Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond es IHC Protocol F. Se recomienda la exposición de epítomos inducida por calor usando Bond Epitope Retrieval Solution 1 durante 20 minutos.

Control de Calidad

Consulte "Uso de reactivos BOND" en la documentación del usuario de BOND.

Resolución de Problemas

Consulte la referencia 3 para ver las acciones correctoras.

Contacte con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems para informar de cualquier tinción anómala.

Interpretación de la Tinción

Consulte "Uso de reactivos BOND" en la documentación del usuario de BOND.

Limitaciones Generales

- La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varios pasos que consiste en la formación especializada sobre la selección de los reactivos adecuados; la selección, fijación y procesado de los tejidos; la preparación del portaobjetos para el IHC; y la interpretación de los resultados de la tinción.
- La tinción de los tejidos depende de la manipulación y procesado de los tejidos antes de la tinción. Los errores de fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calefacción, corte o contaminación con otros tejidos o fluidos pueden producir artefactos, captura de anticuerpos o resultados falsamente negativos. La incoherencia de los resultados puede deberse a variaciones en los métodos de fijación e incrustación, o a irregularidades inherentes al tejido.
- La tinción de contraste excesiva o incompleta puede dificultar la interpretación correcta de los resultados.

- La interpretación clínica de las tinciones positivas o negativas debe evaluarse en el contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de las tinciones positivas o negativas debe complementarse con estudios morfológicos usando los controles positivos y negativos, internos y externos adecuados, así como otras pruebas de diagnóstico. Es responsabilidad de un patólogo cualificado, que conozca el uso correcto de los anticuerpos IHC, los reactivos y los métodos, interpretar todos los pasos utilizados para preparar e interpretar la preparación del IHC final.
- El fabricante proporciona estos anticuerpos/reactivos con una dilución óptima para utilizarlos para el IHC, según las instrucciones que se proporcionan, en cortes de tejido preparados o preparaciones citológicas. Cualquier desviación de los procedimientos de análisis recomendados puede invalidar los resultados esperados declarados; deben emplearse y documentarse los controles adecuados. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir su responsabilidad al interpretar los resultados del paciente.
- Este producto no está indicado para utilizarse en citometría de flujo. No se han determinado las características de rendimiento en la citometría de flujo.
- Los tejidos procedentes de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) pueden mostrar tinción inespecífica con peroxidasa de rábano.
- Los reactivos pueden presentar reacciones inesperadas en tejidos que no se hayan analizado previamente. La posibilidad de obtener reacciones inesperadas incluso en grupos de tejidos analizados no puede descartarse por completo, debido a la variabilidad biológica de la expresión de los antígenos en neoplasmas y otros tejidos patológicos.
- Los sueros normales o no inmunes procedentes del mismo origen animal que los antisueros secundarios utilizados en los pasos de bloqueo pueden provocar resultados falsamente negativos o falsamente positivos debidos a autoanticuerpos o a anticuerpos naturales.
- Se puede observar resultados falsamente positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o productos de reacción del sustrato. También pueden ser provocados por actividad pseudoperoxidásica (eritrocitos), actividad de peroxidasa endógena (citocromo C), o de biotina endógena (p.e. en hígado, mama, encéfalo, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizado.

Limitaciones Específicas del Producto

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con Bond Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente tomando en cuenta estas circunstancias. Los tiempos de protocolo pueden diferir debido a la variación en la fijación de los tejidos y a la eficacia en la preservación del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se debe utilizar reactivos de control negativos a la hora de optimizar las condiciones de detección y los tiempos de protocolo.

Características de Rendimiento

Reproducibilidad

Se determinó la reproducibilidad dentro de la ejecución de la tinción con Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond tiñendo 10 cortes del mismo tejido con Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 de 10 portaobjetos se tiñeron positivamente. Todos los portaobjetos se tiñeron con similar especificidad e intensidad de tinción (variación <1).

Se determinó la reproducibilidad entre ejecuciones de la tinción con Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond tiñendo 10 cortes del mismo tejido, en 3 ejecuciones de tinción diferentes, con Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 de 10 portaobjetos se tiñeron positivamente en cada ejecución. Todos los portaobjetos se tiñeron con similar especificidad e intensidad de tinción (variación <1).

Inmunorreactividad

Tabla 1: reactividad de Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond en tejidos normales

Tejido	Número de casos	Descripción de la tinción	Intensidad de la tinción (0-3+)
Adrenal	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Encéfalo, cerebelo	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Encéfalo, cerebro	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Mama	3	Núcleos de conductos en 2 de 3 tejidos	3+
Cérvix	3	Tinción de núcleos variable en el epitelio escamoso estratificado de ectocérvix, células estromáticas cervicales y tejido glandular	1-2+
Colon	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Esófago	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Corazón	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Riñón	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Hígado	3	Sin tinción en elementos de tejido	0

Pulmón	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Células mesoteliales	1	Sin tinción en elementos de tejido	0
Ovario	3	Leve tinción nuclear variable de un pequeño porcentaje de células estromáticas de ovario. Tinción nuclear positiva de la <i>teca externa</i> ramificándose en el estroma ovárico en un porcentaje de folículos ováricos.	1-2+
Páncreas	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Nervios periféricos	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Pituitaria	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Próstata	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Glándula salival/ submandibular	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Músculo esquelético	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Piel	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Intestino delgado	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Bazo	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Estómago	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Testículo	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Timo	2	Sin tinción en elementos de tejido	0
Tiroides	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Amígdala	3	Sin tinción en elementos de tejido	0
Útero	3	Tinción de núcleos variable de células estromáticas endometriales/miometriales	1+
Médula ósea	3	Sin tinción en elementos de tejido	0

Clave de la intensidad de tinción:

0 - Negativa

1+ - Débil

2+ - Moderada

3+ - Fuerte

Tejidos Normales

El clon 6F11 detecta el antígeno del receptor de estrógeno alfa en el núcleo de las células que expresan altos niveles de ER, una proporción de células endometriales, ováricas y miometriales, y células normales de conductos mamarios.

Inmunorreactividad Publicada

La caracterización de ER (6F11) durante el desarrollo de anticuerpos incluyó una evaluación comparativa de una serie de 55 carcinomas de mama secuenciales. Los tejidos evaluados fueron muestras fijadas en formalina e incrustadas en parafina, procesadas normalmente, teñidas con ER (6F11) y ER (1D5). Se observó una concordancia de tinción para 50 de 55 casos*.

Se evaluó el resultado del receptor de estrógenos en 592 casos usando muestras de tejidos incrustados en parafina, procesados normalmente, procedentes de carcinomas de mama primarios con ER (6F11) y anti-ER (1D5). Globalmente, ER (1D5) y ER (6F11) mostraron una tasa de concordancia[®] del 97,5%.

Más Información

Para obtener más información sobre inmunotinciones con reactivos BOND, consulte los apartados Principio del procedimiento, Material necesario, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del análisis, Interpretación de la tinción, Clave de símbolos en las etiquetas y Limitaciones generales de la sección "Uso de reactivos BOND" de la documentación de usuario suministrada por BOND.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996. 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.
4. 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.

5. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
6. 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.
7. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
8. 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.
9. 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.
10. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Kaplan, P.A. et. al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Fecha de Publicación

27 de junio de 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11

Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

Nº de catálogo: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Utilização Prevista

Este reagente destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.

O anticorpo monoclonal Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond destina-se a ser utilizado para a identificação qualitativa por microscopia óptica do receptor de estrogénios (ER) humano em tecidos fixos com formalina e incluídos em parafina por coloração imunohistoquímica utilizando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III). O clone 6F11 do receptor dos estrogénios [ER (6F11)] liga-se especificamente ao antigénio ER localizado no núcleo de células normais positivas para ER e células neoplásicas.

ER (6F11) está indicado como adjuvante no tratamento, prognóstico e previsão do resultado da terapêutica no cancro da mama. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos adequados, e deve ser avaliada no contexto da história clínica do doente e de outros testes complementares de diagnóstico por um anátomo-patologista qualificado.

Sumario e Explicação

O conteúdo ER do tecido do cancro da mama constitui um parâmetro importante na previsão do prognóstico e resposta à terapêutica endócrina. A introdução de anticorpos monoclonais contra ER permitiu a determinação por rotina do estado dos receptores dos tumores da mama em laboratórios de histopatologia. ER (6F11) é um anticorpo monoclonal de ratinho dirigido contra a molécula de receptor de estrogénios humana. Utilizou-se como imunogénio uma proteína recombinante procariota, correspondendo a todo o comprimento da molécula ER humana. ER (6F11) mostrou reagir com uma proteína de 66 kD de lisados celulares MCF-7 através de Western blot⁴.

Princípio do Procedimento

Podem ser utilizadas técnicas de imunohistoquímica para demonstrar a presença de antigénios em tecidos e células (ver "Utilizar os Reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND). O anticorpo primário contra Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond consiste num produto pronto a utilizar que foi especificamente otimizado para utilização no sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) com Bond Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário contra Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epitopos induzida por calor utilizando a Bond Epitope Retrieval Solution 1 durante 20 minutos. A Bond Polymer Refine Detection utiliza uma nova tecnologia de polimerização controlada para preparar os conjugados de anticorpo com fixador de HRP. O sistema de detecção evita a utilização de estreptavidina e biotina, pelo que elimina a coloração inespecífica resultante da biotina endógena.

A Bond Polymer Refine Detection funciona da seguinte forma:

- A amostra é incubada com peróxido de hidrogénio para quebra da actividade da peroxidase endógena
- É aplicado Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond
- Uma solução de pós-anticorpo primário melhora a preparação do tecido para a penetração do reagente polimérico subsequente
- Um reagente IgG poli-HRP anti-ratinho/coelho localiza o anticorpo primário
- O cromogénio substrato, 3,3'-diaminobenzidina (DAB), visualiza o complexo através de um precipitado castanho
- A contra-coloração com hematoxilina (azul) permite a visualização dos núcleos celulares.

A utilização do Bond Polymer Refine Detection, em combinação com o sistema BOND automatizado, reduz a possibilidade de erro humano e da variabilidade inerente resultante da diluição do reagente individual, pipetagem manual e aplicação de reagente.

Reagentes Fornecidos

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond é um anticorpo monoclonal anti-humano de ratinho produzido como sobrenadante de cultura tecidual e fornecido em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35% de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 mL / 30 mL.

Clone

6F11.

Imunogénio

Proteína recombinante procariota correspondente à totalidade do comprimento da forma alfa da molécula do ER humano.

Especificidade

Receptor de estrogénios humanos.

Subclasse

IgG1.

Concentração de Proteínas Totais

Aproximadamente 10 mg/mL.

Concentração de Anticorpos

Maior ou igual a 0,88 mg/L conforme determinado por ELISA.

Método

ER (6F11) foi cultivado contra proteína ER recombinante derivada do ARNm de células MCF-7. Procedeu-se à imunização de ratinhos Balb/c com o antígeno recombinante (His)6-ER resultante. A triagem foi efectuada mediante ELISA, tendo os sobrenadantes positivos em ELISA sido testados em IHC em secções fixas com formalina e incluídas em parafina de carcinoma da mama com estado de receptor conhecido. As colónias demonstrando coloração imunohistoquímica positiva foram clonadas mediante limitação da diluição.

Diluição e Mistura

O anticorpo primário contra Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond é objecto de diluição ideal para utilização no sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) em combinação com a Bond Polymer Refine Detection. Diluição adicional pode provocar perda da coloração do antígeno. O utilizador tem de validar qualquer alteração deste tipo. Diferenças ao nível do processamento do tecido e dos procedimentos técnicos no laboratório do utilizador podem produzir uma variabilidade significativa dos resultados, necessitando da realização regular de controlos locais. Consulte "Utilizar reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND.

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos

Consultar "Utilizar os reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND para uma lista completa de materiais necessários para tratamento de amostras e coloração imunohistoquímica utilizando o sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

Armazenamento e Estabilidade

Armazene a uma temperatura de 2–8 °C. Não utilize após o fim do prazo de validade referido no rótulo do recipiente.

Os sinais que indicam contaminação e/ou instabilidade do Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond consistem em turvação da solução, desenvolvimento de odor e presença de precipitado.

Coloque entre 2–8 °C imediatamente depois de utilizar.

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador.

Preparação das Amostras

O fixador recomendado é 10% de formalina em tampão neutro para secções de tecido incluídas em parafina.

Precauções

- Este produto destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.
- A concentração de ProCin™ 950 é de 0,35%. Contém o ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolina-3-a e pode provocar irritação da pele, olhos, membranas mucosas e vias aéreas superiores. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes.
- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, entre em contacto com o seu distribuidor local ou sucursal regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems na internet, www.LeicaBiosystems.com.
- As amostras, antes e depois da fixação, e todo o material que a elas seja exposto, devem ser manipuladas como capazes de transmitir infecção e eliminadas com as precauções adequadas². Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto entre a pele e membranas mucosas e reagentes ou amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave-as com uma quantidade abundante de água. Consulte um médico.
- Consulte os regulamentos federais, estaduais e locais relativamente à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes ou poderá ocorrer um aumento da coloração inespecífica.
- A utilização de tempos e temperaturas de recuperação e incubação diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de Utilização

O anticorpo primário contra Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond foi desenvolvido para utilização no sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) em combinação com a Bond Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário contra Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epítomos induzida por calor utilizando a Bond Epitope Retrieval Solution 1 durante 20 minutos.

Controlo de Qualidade

Consulte "Utilizar reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND.

Resolução de Problemas

Consulte a referência 3 para medidas correctivas.

Entre em contacto com o seu distribuidor local ou com a sucursal regional da Leica Biosystems para notificar qualquer coloração pouco habitual.

Interpretação da Coloração

Consulte "Utilizar reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND.

Limitações Gerais

- A imunohistoquímica é um processo de diagnóstico com múltiplos passos, que consiste na formação especializada na escolha dos reagentes adequados; selecção dos tecidos, fixação e processamento; preparação da lâmina IHC; e interpretação dos resultados da coloração.

- A coloração tecidular depende da manipulação e processamento do tecido antes da coloração. A fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento inadequados ou a contaminação por outros tecidos ou líquidos podem produzir interferências, encarceramento de anticorpos ou resultados falsos negativos. A obtenção de resultados inconsistentes pode dever-se a variações dos métodos de fixação e inclusão ou a irregularidades inerentes ao tecido.
- Uma contra-coloração excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados.
- A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser avaliada no contexto da apresentação clínica, morfologia e outros critérios histopatológicos. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos positivos e negativos, internos e externos adequados, bem como outros exames de diagnóstico. É da responsabilidade de um anátomo-patologista qualificado, familiarizado com a utilização adequada de anticorpos IHC, reagentes e métodos, interpretar todos os passos utilizados na preparação e interpretação da preparação de IHC final.
- O fabricante facultar estes anticorpos/reagentes numa diluição ideal para utilização de acordo com as instruções fornecidas para IHC em secções de tecido preparadas ou preparação citológica. Qualquer desvio dos procedimentos de teste recomendados pode invalidar os resultados esperados declarados; devem utilizar-se controlos adequados, que devem ser documentados. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes.
- Este produto não se destina a ser utilizado em citometria de fluxo. As características de desempenho não foram determinadas para citometria de fluxo.
- Tecidos de indivíduos infectados pelo vírus da hepatite B e contendo o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HbsAg) podem apresentar uma coloração inespecífica com peroxidase de rábano.
- Os reagentes podem demonstrar reacções inesperadas em tecidos não previamente testados. A possibilidade de ocorrência de reacções inesperadas, mesmo em grupos de tecidos testados, não pode ser totalmente eliminada dada a variabilidade biológica da expressão antigénica em neoplasias ou noutros tecidos patológicos.
- Soros normais/não imunes da mesma fonte animal como anti-soro secundário utilizado nos passos de bloqueio podem dar origem a resultados falsos negativos ou falsos positivos devidos à presença de auto-anticorpos ou de anticorpos naturais.
- Podem observar-se resultados falsos positivos devidos a uma ligação não imunológica de proteínas ou produtos de reacção do substrato. Estes também podem ser provocados por actividade pseudoperoxidase (eritrócitos), actividade de peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (por exemplo, fígado, mama, cérebro, rim) dependendo do tipo de imunocorante usado.

Limites Específicos do Produto

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond foi otimizado na Leica Biosystems para utilização com a Bond Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar, devido a variações na fixação tecidular e na eficácia de valorização com antígenos, devendo ser determinados de forma empírica. Devem utilizar-se controlos de reagente negativos quando se optimizam as condições de recuperação e os tempos do protocolo.

Características de Desempenho

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade intra-série de coloração com Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond foi determinada corando 10 cortes do mesmo tecido utilizando o Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 das 10 lâminas apresentaram coloração positiva. Todas as lâminas coraram com uma especificidade e intensidade de coloração semelhantes (variação <1).

A reprodutibilidade inter-série de coloração com Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond foi determinada corando 10 cortes do mesmo tecido em 3 séries de coloração diferentes, utilizando o Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 das 10 lâminas apresentaram coloração positiva em cada série. Todas as lâminas coraram com uma especificidade e intensidade de coloração semelhantes (variação <1).

Imunoreactividade

Quadro 1: Reactividade do Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond em Tecidos Normais

Tecido	Número de Casos	Descrição da Coloração	Intensidade da Coloração (0-3+)
Suprarrenal	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Cérebro, Cerebelo	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Cérebro, Cerebelo	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Mama	3	Núcleos de ductos em 2/3 dos tecidos	3+
Colo uterino	3	Coloração variável dos núcleos no epitélio escamoso estratificado ectocervical, células estromais do colo uterino e tecido glandular	1-2+
Cólon	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Esófago	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Coração	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0

Rim	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Fígado	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Pulmão	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Células mesoteliais	1	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Ovário	3	Coloração nuclear variável e fraca de uma pequena percentagem de células do estroma do ovário. Coloração nuclear positiva da <i>teca externa</i> , com ramificações para o estroma do ovário numa percentagem de folículos do ovário.	1-2+
Pâncreas	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Nervos periféricos	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Pituitária	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Próstata	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Glândula Salivar/ Submandibular	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Músculo esquelético	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Pele	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Intestino delgado	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Baço	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Estômago	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Testículo	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Timo	2	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Tiróide	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Amígdala	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0
Útero	3	Coloração variável dos núcleos nas células estromais do endométrio/miométrio	1+
Medula óssea	3	Sem coloração de elementos tecidulares	0

Legenda para a Intensidade da Coloração:

0 - Negativa

1+ - Fraca

2+ - Moderada

3+ - Intensa

Tecidos Normais

O Clone 6F11 detecta o antígeno alfa do receptor de estrogénios nos núcleos das células que exprimem níveis elevados de ER, uma proporção das células do endométrio, ovário e miométrio e as células ductais da mama normal.

Imunoreactividade Publicada

A caracterização de ER (6F11) durante o desenvolvimento de anticorpos incluiu uma avaliação comparativa de uma série de 55 carcinomas da mama sucessivos. Os tecidos avaliados foram, por rotina, amostras processadas fixas em formalina e incluídas em parafina, coradas utilizando ER (6F11) e ER (1D5). Registou-se uma concordância observada de coloração para 50/55 dos casos⁴.

O estado do receptor de estrogénios foi avaliado em 592 casos utilizando, por rotina, amostras tecidulares incluídas em parafina preparadas a partir de carcinomas da mama primários com ER (6F11) e anti-ER (1D5). No global, ER (1D5) e ER (6F11) mostraram uma taxa de concordância de 97,5%¹⁶.

Mais Informações

Poderá encontrar informações adicionais sobre imunocoloração com reagentes BOND nas secções de Princípios do Procedimento, Material Necessário, Preparação da Amostra, Controlo de Qualidade, Verificação do Ensaio, Interpretação da Coloração, Significado dos Símbolos nos Rótulos e Limitações Gerais em "Utilizar os Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et. al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Data de Emissão

27 de Junho de 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

Artikelnummer: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Avsedd Användning

Reagenset är avsett för *in vitro*-diagnostik.

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond monoklonal antikropp är avsedd för att användas för kvalitativ identifiering genom ljusmikroskopi av human Estrogen Receptor (ER) i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad genom immunhistokemisk färgning med det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III). Estrogen Receptor 6F11 [ER (6F11)] binder specifikt till ER-antigenen som finns i kärnan till ER-positiva normala och neoplastiska celler. ER (6F11) anges som en hjälp för hanteringen av, samt prognos och förutsägelse om, terapins resultat i samband med bröstcancer. Den kliniska tolkningen av ev. färgning eller dess frånvaro skall kompletteras av morfologiska studier med bruk av lämpliga kontroller och skall utvärderas i kontexten av patientens kliniska historik och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Förklaring och Sammanfattning

ER i bröstcervävnad är en viktig parameter för förutsägelsen av prognos och respons på endokrin terapi. Införandet av monoklonala antikroppar till ER har gjort att det går att avgöra receptorstatusen i brösttumörer i laboratorier för rutinmässig histopatologi. ER (6F11) är en mus-monoklonal antikropp riktad mot den humana östrogenreceptormolekylen. Ett prokaryotiskt rekombinant protein, som motsvarar den humana ER-fullängdsmolekylen användes som immunogen. ER (6F11) har visat sig reagera med ett 66 kD-protein från MCF-7-cellsater via Western blot.

Metodens Princip

Immunhistokemiska tekniker kan användas för att demonstrera närvaron av antigener i vävnad och celler (se "Använda BOND-reagenser" i BOND-användardokumentationen). Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond primär antikropp är en användardklar produkt som specifikt har optimerats för användning på det automatiserade BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) i kombination med Bond Polymer Refine Detection. Det rekommenderade protokollet för färgning för Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerat epitop återvinnande rekommenderas med användning av Bond Epitope Retrieval Solution 1 i 20 minuter. Bond Polymer Refine Detection nyttjar en ny teknik för kontrollerad polymerisation, för att bereda polymeriska HRP-länkande antikroppkonjugat. Detekteringssystemet undviker bruket av streptavidin och biotin och utesluter därför icke-specifik färgning till följd av endogen biotin.

Bond Polymer Refine Detection fungerar enligt följande:

- Provet inkuberas med väteperoxid för att kväva endogen peroxidaktivitet
- Bond Ready-To-Use Primary Antibody appliceras
- En postprimär antikroppslösning förbättrar genomträngningen hos den följande polymerreagensen
- En poly-HRP anti-mus/kanin IgG-reagens lokaliserar den primära antikroppen
- Substratkromogenet, 3,3'-diaminobenzidin (DAB), synliggör komplexet genom en brun utfällning
- Hematoxylin(blå)-motfärgning gör att cellkärnorna blir synliga.

Genom att använda Bond Polymer Refine Detection i kombination med det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) minskar sannolikheten för mänskliga fel och den inneboende variabiliteten som orsakas av individuell reagensspädning, manuell pipettering och reagensapplicering.

Ingående Reagens

Östrogenreceptor (6F11) är en mus anti-human monoklonal antikropp, producerad som supernatant från cellkultur. Den levereras i trisbuffrad koksaltlösning med bärarprotein, innehållande 0,35% ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 mL / 30 mL.

Klon

6F11.

Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant protein motsvarande fullängds-alfaformen av den humana ER.

Specifitet

Human östrogenreceptor.

Undergrupp

IgG1.

Total Proteinkoncentration

Omkring 10 mg/ml.

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 0,88 mg/l, enligt bestämning med ELISA.

Metod

ER (6F11) har odlats mot rekombinant ER-protein härlett från mRNA från MCF-7-celler. Balb/c-möss immuniserades med den resulterande (His)₆-ÖR rekombinanta antigenen. Screening gjordes med ELISA, med ELISA-positiva supernatanter testade i IHC på formalinfixerade paraffinbäddade sektioner av bröstcarcinom av känd receptorstatus. Kolonier som visar positiv immunhistokemisk färgning har klonats genom begränsande spädning (s.k. "limiting dilution").

Spädning och Blandning

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond primär antikropp är optimalt spädd för bruk på det automatiserade BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) i kombination med Bond Polymer Refine Detection. Ytterligare spädning kan resultera i förlust av antigen-färgning. Användaren måste validera eventuella sådana förändringar. Skillnader i vävnadsprocessning och tekniska procedurer i användarens laboratorium kan orsaka avsevärd variabilitet i resultatet vilket fordrar regelbundet bruk av interna kontroller. Se "Använda BOND-reagens" i din användardokumentation för BOND.

Nödvändig Materiel Som Ej Medföljer

I "Använda BOND-reagens" i BOND-användardokumentationen finns en fullständig lista med den materiel du behöver för att behandla ett prov och göra en immunhistokemisk färgning med BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

Förvaring och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Använd ej efter utgångsdatum som står på förpackningen

Tecken på kontaminering och/eller instabilitet hos Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond är grumling i lösningen, luktutveckling och förekomst av fällning.

Ställ tillbaka i 2–8 °C omedelbart efter användning.

Andra förvaringsbetingelser än de ovan angivna måste verifieras av användaren.

Preparation av Prov

Det rekommenderade fixativet är 10 % neutralbuffrad formalin för paraffinbäddade vävnadssektioner

Säkerhetsföreskrifter

- Produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik.
- ProClin™ 950 har en koncentration på 0,35% och innehåller den aktiva beståndsdelen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on som kan verka irriterande på hud, ögon, slemhinnor och övre luftvägar. Använd engångshandskar när reagenserna hanteras.
- Du kan få tillgång till säkerhetsdatablad genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor. En annan möjlighet är Leica Biosystems webbsajt på www.LeicaBiosystems.com.
- Prover, både före och efter fixeringen, och allt material som använts tillsammans med dem ska hanteras som infektiöst avfall enligt gängse praxis². Pipettera aldrig reagenser med munnen och undvik att reagenser eller prover kommer i kontakt med hud och slemhinnor. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, skölj med stora mängder vatten. Sök läkarvård.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förfordringar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagens. Om detta inte görs kan det leda till en ökad icke-specifik infärgning.
- Återvinande och andra inkubationstider eller temperaturer än de specificerade kan ge felaktiga resultat. Sådana förändringar ska valideras av användaren.

Instruktioner vid Användning

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond primär antikropp har utvecklats för att användas med det automatiserade BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) i kombination med Bond Polymer Refine Detection. Rekommenderat färgningsprotokoll för Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerat epitopt återvinande rekommenderas. Använd då Bond Epitope Retrieval Solution 1 i 20 minuter.

Kvalitetskontroll

Se "Använda BOND-reagens" i BOND-användardokumentationen.

Felsökning

Se referens 3 för förslag till åtgärder.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera onormal infärgning.

Tolking av Färgning

Se "Använda BOND-reagens" i BOND-användardokumentationen.

Allmänna Begränsningar

- Immunhistokemi är en diagnosprocess i flera steg bestående av specialiserad utbildning i urvalet av lämpliga reagenser; urval av vävnad, fixering, och processning; beredning av IHC-objektglaset; och tolkning av färgningsresultatet.
- Vävnadsfärgningen är avhängig av hanteringen och processningen av vävnaden före färgningen. Felaktig fixering, frysning, tining, tvättning, torkning, värmning, sektionering eller kontaminering av andra vävnader eller vätskor kan orsaka artefakter, antikroppsinfängning eller falska negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan uppstå till följd av variationer i fixerings- och inbäddningsmetoderna, eller till följd av inneboende felaktigheter i själva vävnaden.
- Överdriven eller ofullständig mörfärgning kan försvåra en korrekt tolkning av resultaten.

- Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning skall utvärderas i kontexten klinisk presentation, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning skall kompletteras av morfologiska studier som nyttjar lämpliga positiva och negativa interna och externa kontroller, samt andra diagnostiska tester. Det är den kvalificerade patologens - som är bekant med det korrekta användandet av IHC-antikroppar, reagenser och metoder - ansvar att tolka alla steg som genomgås för att bereda och tolka den slutliga IHC-förberedelsen.
- Tillverkaren tillhandahåller dessa antikroppar/reagenser i optimal spädning för användning i enlighet med de medföljande instruktionerna för IHC på förberedda vävnadssektioner eller cytologiska preparat. Avvikelser från de rekommenderade testprocedurerna kan göra de deklarerade förväntade resultaten ogiltiga; relevanta kontroller måste tillämpas och dokumenteras. Användare som frångår de rekommenderade testprocedurerna måste påta sig ansvaret för tolkning av patientresultat.
- Denna produkt är inte avsedd för användning inom flödescytometri. Dess prestandaegenskaper har inte bestämts för flödescytometri.
- Vävnad från personer infekterade med hepatit-B-virus och innehållande hepatit-B ytantigen (HBsAg) kan uppvisa ickespecifisk färgning med pepparrotsperoxidas.
- Reagenser kan uppvisa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Möjligheten till oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte fullständigt elimineras till följd av biologisk variabilitet i antigen-uttryck i neoplasma, eller andra patologiska vävnader.
- Normala/icke-immuna serum från samma animaliska källor som sekundära antiserum som används i blockeringssteg, kan orsaka falsk-negativa eller falsk-positiva resultat till följd av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
- Falsk-positiva resultat kan uppträda till följd av icke-immunologisk bindning av protein eller substratreaktionsprodukter. De kan även orsakas av pseudoperoxidasaktivitet (erytrocyter), endogen peroxidasaktivitet (cytokrom C), eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på typen av immunofärgning som används.

Specifika Begränsningar För Produkten

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond har optimerats vid Leica Biosystems för att användas med Bond Polymer Refine Detection och BOND hjälpreagenser. Användare som avviker från rekommenderat testförfarande måste vid ändrade förhållanden ta ansvar för tolkningen av patientresultaten. Protokolltiderna kan variera på grund av variationer i vävnadsfixering och hur effektivt antigenet intensifieras och ska fastställas empiriskt. Negativa reagenskontroller ska användas då förhållanden för återvinande och protokolltider optimeras.

Prestandaegenskaper

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten inom en körning med Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond bestämdes genom färgning av 10 sektioner av samma vävnad med hjälp av Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 av 10 preparat gav positiv färgning. Samtliga preparat färgades med liknande specificitet och intensitet (varierade <1).

Reproducerbarheten mellan olika körningar med Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond bestämdes genom färgning av 10 sektioner av samma vävnad, vid 3 olika färgningskörningar, med hjälp av Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 av 10 preparat gav positiv färgning vid varje körning. Samtliga preparat färgades med liknande specificitet och intensitet (varierade <1).

Immunoreaktivitet

Tabell 1: Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond:s reaktivitet på normala vävnader

Vävnad	Antal fall	Beskrivning av färgningen	Färgningsintensitet (0-3+)
Adrenal	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Hjärnan, lilla	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Hjärnan, stora	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Bröst	3	Duktala kärnor i 2/3 vävnader	3+
Livmoderhals	3	Variерande kärn-färgning i skiktat skvamöst epitelia på ectocervix, cervikala stromaceller och körtelvävnad	1-2+
Tjocktarm	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Matstrupe	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Hjärta	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Njure	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Lever	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Lunga	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Mesoteliala celler	1	Ingen färgning av vävnadselement	0

Äggstock	3	Svag varierande kärnfärgning av en liten andel av ovariala stromaceller. Positiv kärnfärgning av <i>theca externa</i> som förgrenar sig in i den ovariala stroman i en andel av äggstocksfolliklarna.	1-2+
Bukspottkörteln	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Perifer nerv	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Hypofys	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Prostata	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Saliv-/submandibulära körteln	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Skelettmuskel	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Hud	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Tunntarm	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Mjälte	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Mage	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Testikel	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Tymus	2	Ingen färgning av vävnadselement	0
Sköldkörtel	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Tonsill	3	Ingen färgning av vävnadselement	0
Livmoder	3	Variabel kärnfärgning av livmoderslemhinne-/ livmoderstromaceller	1+
Benmärg	3	Ingen färgning av vävnadselement	0

Nyckel till färgintensitet:

- 0 - Negativ
- 1+ - Svag
- 2+ - Måttlig
- 3+ - Stark

Normala Vävnader

Klon 6F11 detekterar antigenen för Estrogen Receptor alfa i de cellkärnor som uppvisar höga nivåer av östrogenreceptorer, en andel av livmoderslemhinne-, äggstocks- och livmodersceller, samt normala, duktalet bröstceller.

Publicerad Immunoreaktivitet

Karakteriseringen av ER (6F11) under antikropputveckling omfattade en komparativ utvärdering av en serie av 55 sekventiella bröstcarcinom. De vävnader som utvärderades var rutinmässigt processade, formalinfixerade, paraffinbäddade prover som färgats med hjälp av både ER (6F11) och ER (1D5). En överensstämmelse i form av färgning observerades i 50 av 55 fall¹⁶.

Östrogenreceptorstatusen utvärderades i 592 fall med användning av rutinmässigt beredda paraffinbäddade vävnadsprover från primära bröstcarcinom med ER (6F11) och anti-ER (1D5). Totalt visade ER (1D5) och ER (6F11) en överensstämmelsegrad på 97,5%¹⁶.

Mer Information

Mer information om immunfärgning med BOND-reagens finns under rubrikerna Bakgrund till metoden, Nödvändig materiel, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av assayer, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i BOND användardokumentation.

Litteraturförteckning

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.

6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et. al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Utgivningsdatum

27 juni 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11

Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

Αρ. καταλόγου: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Σκοπός Χρήσης

Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond προορίζεται για χρήση για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός του ανθρώπινου υποδοχέα οιστρογόνων (ER) σε μονιμοποιημένο σε φορμόλη και ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό με ανοσοϊστοχημική χρώση, με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III). Το Estrogen Receptor Clone O κλώνος υποδοχών οιστρογόνων 6F11 [ER (6F11)] δεσμεύεται ειδικά στο αντιγόνο ER που βρίσκεται στον πυρήνα θετικών για το ER φυσιολογικών και νεοπλασματικών κυττάρων.

Το ER (6F11) ενδείκνυται ως βοήθεια στην αντιμετώπιση, στην πρόγνωση και στην πρόβλεψη της έκβασης θεραπείας του καρκίνου του μαστού. 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.

Περίληψη και Επεξήγηση

Η περιεκτικότητα σε υποδοχέα ER του ιστού καρκίνου του μαστού αποτελεί σημαντική παράμετρο στην πρόβλεψη της πρόγνωσης και της ανταπόκρισης στην ενδοκρινική θεραπεία. Η εισαγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων ενάντια στο ER έχει επιτρέψει την πραγματοποίηση του προσδιορισμού της κατάστασης των υποδοχών των όγκων του μαστού σε συνήθη εργαστήρια ιστοπαθολογίας. Το ER (6F11) είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού που κατευθύνεται ενάντια στο μόριο του ανθρώπινου υποδοχέα οιστρογόνων. Ως ανοσογόνο χρησιμοποιήθηκε μια προκαρωτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, που αντιστοιχεί στο μόριο ανθρώπινου ER πλήρους μήκους. Το ER (6F11) έχει δείξει ότι αντιδρά με μια πρωτεΐνη 66 kD από κυτταρολύματα MCF-7 μέσω Western blot.

Αρχή της Διαδικασίας

Για την κατάδειξη της παρουσίας αντιγόνων στον ιστό και στα κύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές τεχνικές (δείτε την ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND). Το πρωτογενές αντίσωμα Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond είναι ένα έτοιμο προς χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III) σε συνδυασμό με το Bond Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται θερμικά επαγόμενη ανάκτηση επιτόπου με χρήση του Bond Epitope Retrieval Solution 1 επί 20 λεπτά. Το Bond Polymer Refine Detection χρησιμοποιεί μια νέα τεχνολογία ελεγχόμενου πολυμερισμού για την παρασκευή πολυμερών συζυγών HRP-αντισώματος συνδότη. Το σύστημα ανίχνευσης αποφεύγει τη χρήση της στρεπταβιδίνης και της βιοτίνης και, επομένως, εξαλείφει τη μη ειδική χρώση ως αποτέλεσμα της ενδογενούς βιοτίνης.

Το Bond Polymer Refine Detection δρα ως εξής:

- Το δείγμα επωάζεται με υπεροξειδίου του υδρογόνου για την απόσβεση της ενδογενούς δραστηριότητας της υπεροξειδάσης
- Εφαρμόζεται Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond
- Ένα διάλυμα μετα-πρωτογενούς αντισώματος ενισχύει τη διείσδυση του επακόλουθου πολυμερούς αντιδραστηρίου
- Ένα αντιδραστήριο IgG αντι-ποντικού/κουνελίου πολυ-HRP εντοπίζει το πρωτογενές αντίσωμα
- Το χρωμογόνο υπόστρωμα, 3,3'-διαμινοβενζιδίνη (DAB), οπτικοποιεί το σύμπλοκο μέσω καστανού ιζήματος
- Η (κυσινή) αντίχρωση αιματοξυλίνης επιτρέπει την οπτικοποίηση των κυτταρικών πυρήνων.

Η χρήση του Bond Polymer Refine Detection, σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), μειώνει την πιθανότητα ανθρώπινου σφάλματος και γγενούς μεταβλητότητας, η οποία προκύπτει από την αραίωση μεμονωμένων αντιδραστηρίων, μη αυτόματη διανομή με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστηρίων.

Παρεχόμενο Αντιδραστήριο

Το Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35% ProCline™ 950 ως συντηρητικό.

Συνολικός όγκος = 7 mL / 30 mL.

Κλώνος

6F11.

Ανοσογόνο

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

Ειδικότητα

Ανθρώπινος υποδοχέας οιστρογόνων.

Υποκατηγορία

IgG1.

Συνολική Συγκέντρωση ΠρωτεΐνηςΠερίπου

10 mg/mL.

Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 0,8 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA.

Μέθοδος

Το ER (6F11) αναπτύχθηκε ενάντια στην ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη ER που προήλθε από το mRNA των κυττάρων MCF-7. Ποντικοί Balb/c ανοσοποιήθηκαν με το ανασυνδυασμένο αντιγόνο (His)6-ER που προέκυψε. Διεξήχθη διερεύνηση με ELISA, με θετικά σε ELISA υπερκείμενα, τα οποία εξετάστηκαν σε IHC σε μονιμοποιημένες με φορμόλη, ενσωματωμένες σε παραφίνη τομές καρκινώματος του μαστού γνωστής κατάστασης υποδοχέα. Οι αποικίες που παρουσιάζουν θετική ανοσοϊστοχημική χρώση κλωνοποιήθηκαν με αραίωση περιορισμού.

Αραίωση και Ανάμειξη

Το πρωτογενές αντίσωμα Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond αραιώνεται βέλτιστα για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III) σε συνδυασμό με το Bond Polymer Refine Detection. Περαιτέρω αραίωση ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα απώλεια χρώσης του αντιγόνου. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει τυχόν τέτοια αλλαγή. 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. Ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την επεξεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος BOND, ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Φύλαξη και Σταθερότητα

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του περιέκτη.

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια του Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond είναι: θολρότητα του διαλύματος, ανάπτυξη οσμής και παρουσία ιζήματος.

Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Συνθήκες φύλαξης εκτός από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη.

Παρασκευή Δείγματος

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

Προφυλάξεις

- Αυτό το προϊόν προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Η συγκέντρωση του ProClim™ 950 είναι 0,35%. Περιέχει το δραστικό συστατικό 2-μεθυλ-4-ισοθειαζόλη-3-όνη και ενδέχεται να προκαλέσει ερεθισμό στο δέρμα, τους οφθαλμούς, τους βλεννογόνους και την άνω αναπνευστική οδό. Φοράτε αναλώσιμα γάντια κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων.
- Για να λάβετε ένα αντίτυπο του δελτίου δεδομένων ασφαλείας υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems ή, εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.
- Τα δείγματα, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, πρέπει να υποβάλλονται σε χειρισμό ως δυνητικά μετάδοσης λοίμωξης και να απορρίπτονται με κατάλληλες προφυλάξεις. Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα τα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια ή δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι διαφορετικά ενδέχεται να αυξηθεί η μη ειδική χρώση.
- Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοια μεταβολή πρέπει να επικυρώνεται από τον χρήστη.

Οδηγίες Χρήσης

Το πρωτογενές αντίσωμα Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond αναπτύχθηκε για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III) σε συνδυασμό με το Bond Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται θερμικά επαγόμενη ανάκτηση επιτόπου με χρήση του Bond Epitope Retrieval Solution 1 επί 20 λεπτά.

Ποιοτικός Έλεγχος

Ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Σχετικά με τις διορθωτικές ενέργειες, ανατρέξτε στην παραπομπή 3.

Για να αναφέρετε περιπτώσεις ασυνήθιστης χρώσης, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems.

Ερμηνεία Της Χρώσης

Ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Γενικοί Περιορισμοί

- Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια διαγνωστική διεργασία πολλαπλών βημάτων, η οποία αποτελείται από ειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, επιλογή ιστού, μονιμοποίηση και επεξεργασία, παρασκευή 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, κατάψυξη, απόψυξη, πλύση, στέγνωμα, θέρμανση, τομή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά ενδέχεται να παράγει σφάλματα τεχνικής, πλάνης, απόψυξης ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τυχόν ασυνεπή αποτελέσματα ενδέχεται να οφείλονται σε παραλλαγές των μεθόδων μονιμοποίησης και ενσωμάτωσης ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.
- Τυχόν υπερβολική ή ατελής αντίχρωση ενδέχεται να διακυβεύσει τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
- Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια της κλινικής εικόνας, της μορφολογίας και άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης πρέπει να συμψηφίζεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς θετικούς και αρνητικούς εσωτερικούς και εξωτερικούς μάρτυρες, καθώς και άλλες διαγνωστικές εξετάσεις. Αποτελεί ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολογοανατόμου, ο οποίος είναι εξοικειωμένος με τη σωστή χρήση των ανοσοϊστοχημικών αντισωμάτων, αντιδραστηρίων και μεθόδων, να ερμηνεύει όλα τα βήματα που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία και την ερμηνεία της τελικής ανοσοϊστοχημικής παρασκευής.
- Ο κατασκευαστής παρέχει αυτά τα αντισώματα/αντιδραστήρια σε βέλτιστη αραίωση για χρήση, ακολουθώντας τις οδηγίες που παρέχονται για ανοσοϊστοχημεία σε παρασκευασμένες τομές ιστού ή κυτταρολογικό παρασκεύασμα. Οποιαδήποτε απόκλιση από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης, ενδέχεται να ακυρώσει τα δηλωμένα αναμενόμενα αποτελέσματα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται και να τεκμηριώνονται κατάλληλοι μάρτυρες. Χρήστες που αποκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αποδέχονται την ευθύνη για ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών.
- Το προϊόν αυτό δεν προορίζεται για χρήση σε κυτταρομετρία ροής. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν έχουν προσδιοριστεί για κυτταρομετρία ροής.
- Ιστοί από άτομα μολυσμένα με ιό της ηπατίτιδας Β και οι οποίοι περιέχουν επιφανειακό αντιγόνο της ηπατίτιδας Β (HBsAg) ενδέχεται να εμφανίσουν μη ειδική χρώση με υπεροξειδάση χρένου.
- Τα αντιδραστήρια ενδέχεται να παρουσιάσουν μη αναμενόμενες αντιδράσεις σε ιστούς που δεν έχουν εξεταστεί προηγουμένως. Η πιθανότητα μη αναμενόμενων αντιδράσεων, ακόμα και σε ομάδες ιστών που έχουν εξεταστεί δεν είναι δυνατόν να εξαλειφθεί εντελώς λόγω της βιολογικής ποικιλομορφίας της έκφρασης του αντιγόνου σε νεοπλασμάτα ή άλλους παθολογικούς ιστούς.
- Φυσιολογικοί/μη άνοσοι οροί από την ίδια ζωική πηγή ως δευτερογενείς αντιοροί που χρησιμοποιούνται σε βήματα αποκλεισμού ενδέχεται να προκαλέσουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω αυτοαντισωμάτων ή φυσικών αντισωμάτων.
- Ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης των πρωτεϊνών ή προϊόντων αντίδρασης υποστρώματος. Ενδέχεται επίσης να προκληθούν από δραστηριότητα ψευδουπεροξειδάσης (ερυθροκυτταρα), δραστηριότητα ενδογενούς υπεροξειδάσης (κυτόχρωμα C) ή ενδογενή βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο ανοσοχρώσης που χρησιμοποιείται.

Ειδικό Περιορισμό Του Προϊόντος

Το Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond έχει βελτιστοποιηθεί στην Leica Biosystems για χρήση με το Bond Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Χρήστες που αποκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αποδέχονται την ευθύνη για ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών υπό τις συνθήκες αυτές. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου ενδέχεται να διαφέρουν, λόγω της μεταβλητότητας της μονιμοποίησης του ιστού και της αποτελεσματικότητας ενίσχυσης των αντιγόνων και πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων πρωτοκόλλου, πρέπει να χρησιμοποιούνται αρνητικοί μάρτυρες αντιδραστηρίων.

Χαρακτηριστικά Απόδοσης

Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα για την ίδια ανάλυση της χρώσης με το Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond προσδιορίστηκε με χρώση 10 τομών του ίδιου ιστού με χρήση του Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 από τις 10 αντικειμενοφόρους πλάκες χρωματίστηκαν θετικά. Όλες οι αντικειμενοφόροι πλάκες χρωματίστηκαν με παρόμοια ειδικότητα και ένταση χρώσης (κυμάνθηκαν κατά <1).

Η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ σειράς αναλύσεων της χρώσης με το Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond προσδιορίστηκε με χρώση 10 τομών του ίδιου ιστού, σε 3 διαφορετικές αναλύσεις χρώσεων, με χρήση του Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 από τις 10 αντικειμενοφόρους πλάκες χρωματίστηκαν θετικά σε κάθε ανάλυση. Όλες οι αντικειμενοφόροι πλάκες χρωματίστηκαν με παρόμοια ειδικότητα και ένταση χρώσης (κυμάνθηκαν κατά <1).

Ανοσοαντιδραστικότητα

Πίνακας 1: Αντιδραστικότητα του Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond σε φυσιολογικούς ιστούς

Ιστός	Αριθμός περιπτώσεων	Περιγραφή της χρώσης	Ένταση χρώσης (0-3+)
Επινεφρίδιο	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Εγκέφαλος, παρεγκεφαλίδα	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Εγκέφαλος, ημισφαίριο εγκέφαλου	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Μαστός	3	Πυρήνες πόρων σε 2/3 ιστούς	3+

Τράχηλος	3	Μεταβλητή χρώση πυρήνων στο πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου, τραχηλικών στρωματικών κυττάρων και αδενικού ιστού	1-2+
Κόλον	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Οισοφάγος	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Καρδιά	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Νεφρός	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Ήπαρ	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Πνεύμονας	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Μεσοθηλιακά κύτταρα	1	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Ωθήκη	3	Αμυδρή μεταβλητή πυρηνική χρώση μικρού ποσοστού ωθηθικών στρωματικών κυττάρων. Θετική πυρηνική χρώση της διακλάδωσης της <i>εξωτερικής θήκης</i> στο ωθηθικό στρώμα σε ποσοστό ωοθυλακίων.	1-2+
Πάγκρεας	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Περιφερικό νεύρο	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Υπόφυση	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Προστάτης	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Σιελογόνος/Υπογνάθιος αδένας	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Σκελετικός μυς	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Δέρμα	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Λεπτό έντερο	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Σπλήνας	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Στόμαχος	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Όρχις	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Θύμος αδένας	2	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Θυρεοειδής	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Αμυγδαλή	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0
Μήτρα	3	Μεταβλητή χρώση πυρήνων ενδομήτριων/μομητρίων στρωματικών κυττάρων	1+
Μυελός οστών	3	Καμία χρώση στοιχείων ιστού	0

Κλειδί στην ένταση χρώσης:

- 0 - Αρνητική
- 1+ - Ασθενής
- 2+ - Μέτρια
- 3+ - Ισχυρή

Φυσιολογικοί Ιστοί

Το CloneO κλώνος 6F11 ανιχνεύει το αντιγόνο του α-υποδοχέα των οιστρογόνων στους πυρήνες κυττάρων που εκφράζουν υψηλά επίπεδα του ER, σε ένα ποσοστό κυττάρων του ενδομητρίου, των ωθηθικών και του μομητρίου, καθώς και φυσιολογικών κυττάρων των πόρων του μαστού.

Δημοσιευμένη Ανοσοαντιδραστικότητα

Ο χαρακτηρισμός του ER (6F11) κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης αντισώματος περιελάμβανε μια συγκριτική αξιολόγηση μιας σειράς 55 διαδοχικών καρκινωμάτων μαστού. Οι ιστοί που αξιολογήθηκαν ήταν μονιμοποιημένα με φορμόλη, ενσωματωμένα σε παραφίνη δείγματα που είχαν υποβληθεί επεξεργασία ρουτίνας, τα οποία χρωματίστηκαν με χρήση τόσο του ER (6F11) όσο και του ER (1D5). Υπήρχε μια παρατηρούμενη συμφωνία χρώσης για 50/55 περιπτώσεις ⁴.

Η κατάσταση υποδοχέα οιστρογόνων αξιολογήθηκε σε 592 περιπτώσεις με χρήση ενσωματωμένων σε παραφίνη δειγμάτων ιστού που είχαν υποβληθεί σε επεξεργασία ρουτίνας από πρωτοπαθή καρκινώματα μαστού με ER (6F11) και αντι-ER (1D5). Συνολικά, το ER (1D5) και το ER (6F11) εμφάνισαν ποσοστό συμφωνίας 97,5%¹⁶.

Πρόσθετες Πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ανοσοχρώση με αντιδραστήρια BOND, υπό τους τίτλους "Αρχή της διαδικασίας", "Απαιτούμενα υλικά", "Προετοιμασία δείγματος", "Ποιοτικός έλεγχος", "Επαλήθευση προσδιορισμού", "Ερμηνεία της χρώσης", "Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες" και "Γενικοί περιορισμοί" στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et. al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Ημερομηνία Έκδοσης

27 Ιουνίου 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond™

Katalognummer.: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Tilsigtet Anvendelse

Dette reagens er beregnet til brug i *in vitro*-diagnostik.

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond Monoclonal Antibody er beregnet til kvalitativ identifikation ved lysmikroskopi af human østrogenreceptor (ER) i formalinfixeret, paraffinindstøbt væv vha. immunhistokemisk farvning med brug af det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Østrogenreceptorklon 6F11 [ER (6F11)] binder sig specifikt til ER-antigenet, der findes i kernen i normale og neoplastiske ER-positive celler.

ER (6F11) er indiceret som en hjælp ved behandling, prognose og forudsigelse af behandlingsresultat af mammacancer. Den kliniske tolkning af enhver farvning eller fravær af samme skal suppleres af morfologiske undersøgelser og egnede kontroller og skal vurderes af en uddannet patolog i konteksten af patientens anamnese samt andre diagnostiske prøver.

Resumé og Forklaring

ER i mammacancervæv er en vigtig parameter ved forudsigelsen af prognose og respons på endokrin behandling. Introduktionen af monoklonale antistoffer mod ER har gjort det muligt at bestemme receptorstatus af mammatumorer i almindelige histopatologiske laboratorier. ER (6F11) er et murint monoklonalt antistof rettet mod det humane østrogenreceptormolekyle. Der er blevet anvendt et prokaryotisk rekombinant protein svarende til et humant ER-molekyle i sin fulde længde som immunogen. Det er påvist, at ER (6F11) reagerer med et 66-kD-protein fra MCF-7-cellelysater via Western blot¹.

Procedureprincip

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen). Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er et brugsklart produkt, som er optimeret specifikt til brug på det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) sammen med Bond Polymer Refine Detection. Den anbefalede farveprotokol for Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er IHC Protocol F. Varmeinduceret epitopgenfindning anbefales med brug af Bond Epitope Retrieval Solution 1 i 20 minutter. Bond Polymer Refine Detection anvender en helt ny kontrolleret polymeriseringsteknologi til fremstilling af polymere HRP-linker-antistofkonjugater. Detektionssystemet undgår brug af streptavidin og biotin og eliminerer derfor ikke-specifik farvning som følge af endogent biotin.

Bond Polymer Refine Detection virker som følger:

- Præparatet inkuberes med hydrogenperoxid for at undertrykke endogen peroxidaseaktivitet
- Der tilsættes Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond
- En post-primær-antistofopløsning forbedrer penetration af det efterfølgende polymerreagens
- Et polymert HRP-reagens mod muse-/kanin-IgG lokaliserer det primære antistof
- Substratkromogenet, 3,3'-diaminobenzidin (DAB), visualiserer komplekset via et brunt præcipitat
- Hematoxylinkontrafarvning (blå) muliggør visualisering af cellekerner.

Brugen af Bond Polymer Refine Detection sammen med det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reducerer risikoen for menneskelige fejl og den iboende variabilitet, der følger af individuel reagensfortynding, manuel pipettering og reagensapplikation.

Leverede Reagenser

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er et murint antihumant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant og leveret i Tris-bufferjusteret saltvand med bæreprøtein indeholdende 0,35% ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volumen = 7 mL / 30 mL.

Klon

6F11.

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein svarende til alfa-formen af det humane østrogenreceptormolekyle i sin fulde længde.

Specifitet

Human østrogenreceptor.

Underklasse

IgG1.

Samlet Proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 0,8 mg/l som bestemt med ELISA.

Metode

ER (6F11) blev frembragt via rekombinant ER-protein derivet fra mRNA i MCF-7-celler. Balb/c-mus blev immuniseret med det resulterende rekombinante (His)6-ER-antigen. Screening blev udført vha. ELISA, idet ELISA-positive supernatanter blev testet i IHC på formalin-fikserede, paraffinindstøbte præparater af mammaplacinon med kendt receptorstatus. Kolonier, der viste positiv immunhistokemisk farvning, blev klonet ved limiting dilution.

Fortynding og Blanding

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er optimalt fortyndet til brug på det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) sammen med Bond Polymer Refine Detection. Yderligere fortynding kan resultere i mistet antigenfarvning. Brugeren skal validere enhver ændring af denne art. Forskel i vævsbehandling og tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan tilvejebringe signifikante afvigelser i resultaterne og nødvendiggøre regelmæssig udførelse af interne kontroller. Se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen.

Nødvendige Materialer, der Ikke Medfølger

Der henvises til "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen for en komplet liste over materialer, der er nødvendige til præparatbehandling og immunhistokemisk farvning ved hjælp af BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Opbevaring og Stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på beholderens etiket.

De tegn, der indikerer, at Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er kontamineret og/eller ustabil, omfatter turbiditet af opløsningen, lugt udvikling og tilstedeværelse af præcipitat.

Sættes tilbage til opbevaring ved 2–8 °C umiddelbart efter brug.

Opbevaringsbetingelser, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren.

Proveklargoring

Det anvendte fiksativ er 10 % neutralbufferet formalin til paraffinindstøbte vævspræparater.

Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til brug i *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin™ 950 er 0,35%. Det indeholder det aktive indholdsstof 2-methyl-4-isothiazolin-3-one og kan forårsage irritation af hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Der skal anvendes handsker ved håndtering af reagenser.
- En kopi af sikkerhedsdatabladet (MSDS) kan fås ved henvendelse til den lokale distributør eller til Leica Biosystems' regionale kontor. Det kan tillige hentes på Leica Biosystems' hjemmeside www.LeicaBiosystems.com.
- Præparater, både før og efter fiksering, samt alle øvrige materialer, der eksponeres for disse, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler. Afipettér ikke reagenser med munden, og undgå at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.
- Genfindning, inkubationstider eller -temperaturer ud over de specificerede kan give fejlagtige resultater. Enhver ændring af denne art skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er udviklet til brug på det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) sammen med Bond Polymer Refine Detection. Den anbefalede farvningsprotokol for Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er IHC Protocol F. Varmeinduceret epitopenfindning anbefales ved brug af Bond Epitope Retrieval Solution 1 i 20 minutter.

Kvalitetskontrol

Se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen.

Fejlfinding

Der henvises til reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

Kontakt den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

Tolkning af Farvning

Se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen.

Generelle Begrænsninger

- Immunhistokemi er en diagnostisk multitrinsproces, som består af specialuddannelse i udvælgelse af de relevante reagenser; vævsudvælgelse, fiksering og bearbejdning; klargøring af IHC-objektglasset samt tolkning af farvningsresultater.
- Vævsfarvningen afhænger af håndteringen og bearbejdningen af vævet forud for farvningen. Ukorrekt fiksering, nedfrysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, snitdeling eller kontaminering med andre væv eller væsker kan tilvejebringe artefakter, antistof-trapping eller falsk negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes forskelle i fikserings- og indstøbningsmetoder eller naturlige uregelmæssigheder i vævet.
- Kraftig eller ufuldstændig kontrafarvning kan forstyrre korrekt tolkning af resultaterne.

- Den kliniske tolkning af enhver positiv eller negativ farvning skal vurderes i konteksten af klinisk præsentation, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske tolkning af enhver positiv eller negativ farvning skal suppleres med morfologiske undersøgelser med brug af passende positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske test. En uddannet patolog, som er fortrolig med korrekt anvendelse af IHC-antistoffer, -reagenser og -metoder, skal have ansvaret for at tolke alle de trin, der anvendes til klargøring og tolkning af det endelige IHC-præparat.
- Producenten leverer disse antistoffer/reagenser i optimal fortynding til brug på klargjorte vævspræparater eller cytologiske præparater ifølge de leverede brugsanvisninger til IHC. Enhver afvigelse fra anbefalede testprocedurer kan gøre anførte forventede resultater ugyldige. Passende kontroller skal anvendes og dokumenteres. Brugere, som afviger fra anbefalede testprocedurer, skal selv tage ansvaret for tolkning af patientresultater.
- Dette produkt er ikke beregnet til anvendelse ved flowcytometri. Der er ikke blevet fastlagt funktionsdata for flowcytometri.
- Væv fra personer inficeret med hepatitis B-virus og indeholdende hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg) kan udvise ikke-specifikt farvning med peberrodsperoxidase.
- Reagenser kan vise uventede reaktioner i tidligere ikke-testede væv. Muligheden for uventede reaktioner – selv i testede vævsgrupper – kan ikke elimineres fuldstændigt på grund af biologisk variabilitet ved antigenekspression i neoplasmer eller andre patologiske væv.
- Normale/ikke-immune sera fra samme animalske kilde som sekundære antisera anvendt på blokeringsstrin kan medføre falsk negative eller falsk positive resultater på grund af autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
- Falsk positive resultater kan ses på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også skyldes pseudoperoxidaseaktivitet (erythrocytter), endogen peroxidase-aktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, mamma, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarve.

Produktspecifikke Begrænsninger

Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med Bond Polymer Refine Detection og BOND-hjælperreagenser. Brugere, som afviger fra anbefalede testprocedurer, må selv tage ansvaret for tolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere på grund af variationer i vævsfiksering og effektiviteten af antigenforbedring og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af genfindingsbetingelser og protokollider.

Funktionsdata

Reproducerbarhed

Reproducerbarhed i hver farvningskørsel (intra-run) med Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond blev bestemt ved at farve 10 sektioner af det samme væv med Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 ud af 10 slides blev farvet positivt. Alle slides blev farvet med samme farvningspecificitet og intensitet (afveg med <1).

Reproducerbarhed mellem hver farvningskørsel (inter-run) med Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond blev bestemt ved at farve 10 sektioner af det samme væv, i 3 separate kørsler, med Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 ud af 10 slides blev farvet positivt i hver kørsel. Alle slides blev farvet med samme farvningspecificitet og intensitet (afveg med <1).

Immunreaktivitet

Tablet 1: Reaktivitet af Estrogen Receptor Clone 6F11 Ready-To-Use Primary Antibody For Bond på normale væv

Væv	Antal tilfælde	Beskrivelse af farvning	Farvningsintensitet (0-3+)
Binyre	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Hjerne, cerebellum	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Hjerne, cerebrum	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Mamma	3	Ductus-cellekerner i 2/3 væv	3+
Cervix	3	Variabel kernefarvning i det lagdelte pladeepitel i ektocervix, cervikale stromaceller og glandelvæv	1-2+
Colon	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Oesophagus	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Hjerte	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Nyre	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Lever	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Lunge	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Mesotelceller	1	Ingen farvning af vævselementer	0

Ovarium	3	Svagt variabel kernefarvning af en lille procentdel af ovariale stromalceller. Positiv kernefarvning af <i>theca externa</i> -forgreningen i ovariestromaet i en procentdel af ovariefolliklerne.	1-2+
Pancreas	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Perifer nerve	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Hypofyse	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Prostata	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Spytkirtel/submandibulær kirtel	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Skeletmuskul	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Hud	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Tyndtarm	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Milt	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Gaster	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Testis	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Thymus	2	Ingen farvning af vævselementer	0
Thyroidea	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Tonsil	3	Ingen farvning af vævselementer	0
Uterus	3	Variabel kernefarvning af endometriale/ myometriale stromalceller	1+
Knoglemarv	3	Ingen farvning af vævselementer	0

Nøgle til farvningsintensitet:

0 - Negativ

1+ - Svag

2+ - Moderat

3+ - Stærk

Normale Væv

Klon 6F11 påviser antigen mod østrogenreceptor alfa i kerner i celler, som eksprimerer høje niveauer af ER, en del af endometrie-, ovarie- og myometrie-cellerne, og normale ductale celler fra mamma.

Publiceret Immunreaktivitet

Karakterisering af ER (6F11) under antistofudvikling omfattede en komparativ vurdering af en serie på 55 sekventielle mammakarcinomer. De vurderede væv var rutinemæssigt behandlede formalinfikserede, paraffinindstøbte præparater farvet med brug af både ER (6F11) og ER (1D5). Der sås farvningskonkordans i 50/55 tilfælde*.

Østrogenreceptorstatus blev vurderet hos 592 tilfælde med brug af rutinemæssigt klargjorte paraffinindstøbte vævsprøver fra primære mammakarcinomer med ER (6F11) og anti-ER (1D5). Samlet viste ER (1D5) og ER (6F11) en konkordansrate på 97,5%¹⁶.

Yderligere Oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med BOND-reagenser kan findes i "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Fortolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.

6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et. al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Udgivelsesdato

27 juni 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11

Gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond™

Catalogusnr.: PA0151 (7 ml) / PA0009 (30 ml)

Beoogd gebruik

Dit reagens is voor gebruik bij *in-vitro*diagnostiek.

Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond is een monoklonaal antilichaam dat is bestemd voor gebruik bij de kwalitatieve identificatie, met behulp van lichtmicroscopie, van humane oestrogenreceptor (ER) in met formaline gefixeerd en in paraffine ingebed weefsel door middel van immunohistochemische kleuring met het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem). Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond bindt specifiek aan het ER-antigeen dat zich in de kern van ER-positieve normale en neoplastische cellen bevindt.

ER (6F11) is geïndiceerd als hulpmiddel bij de behandeling, het inschatten van de prognose en het voorspellen van de behandelresultaten bij borstkanker. De klinische interpretatie van elke kleuring of het ontbreken hiervan moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste controles en moet binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests worden geëvalueerd door een bevoegd patholoog.

Samenvatting en toelichting

De hoeveelheid ER in borstkankerweefsel is een belangrijke parameter bij het voorspellen van de prognose en de reactie op endocriene therapie. Met het beschikbaar komen van monoklonale antilichamen tegen ER is het mogelijk geworden om bepalingen van de receptorstatus van borsttumoren in histopathologische routinelaboratoria uit te voeren. ER (6F11) is een monoklonaal muizenantilichaam gericht tegen het humane oestrogenreceptormolecuul. Een prokaryotisch recombinant eiwit dat overeenkomt met het 'full-length' humane ER-molecuul werd als het immunogeen gebruikt. Voor ER (6F11) is door middel van Western-blotting aangetoond dat het met een 66 kD eiwit uit MCF-7-cellsaten reageert¹.

Principe van de procedure

Immunohistochemische technieken kunnen worden gebruikt om de aanwezigheid van antigenen in weefsel en cellen aan te tonen (zie "Using BOND-reagents" (Bond-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND). Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor BOND is een gebruiksklaar product dat speciaal is geoptimaliseerd voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) in combinatie met Bond Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond is IHC Protocol F. Warmte-geïnduceerde epitooop-retrieval wordt aanbevolen met gebruik van Bond Epitope Retrieval Solution 1 gedurende 20 minuten. Bond Polymer Refine Detection maakt gebruik van een nieuwe technologie van gecontroleerde polymerisatie waarmee polymere HRP-linker-antilichaamconjugaten worden bereid. Doordat het detectiesysteem geen gebruik maakt van streptavidine en biotine, wordt het probleem van niet-specifieke kleuring als gevolg van endogeen biotine vermeden.

Bond Polymer Refine Detection werkt als volgt:

- Het monster wordt geïncubeerd met waterstofperoxide om endogene peroxidaseactiviteit te verminderen
- Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond wordt opgebracht
- Een oplossing die na het primaire antilichaam wordt gebruikt, verbetert de penetratie van het daaropvolgende polymere reagens
- Een anti-muis-poly-HRP-konijnen-IgG detecteert het primaire antilichaam
- Het substraatchromogeen, 3,3'-diaminobenzidine (DAB), maakt het complex zichtbaar door de vorming van een bruin precipitaat
- Met een tegenkleuring met hematoxyline (blauw) worden celkernen zichtbaar gemaakt.

Gebruik van Bond Polymer Refine Detection in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) vermindert de kans op menselijke fouten en de variabiliteit die inherent is aan het verdunnen van individuele reagentia, handmatig pipetteren en handmatige reagensopbrenging.

Geleverde reagens

Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond is een anti-humaan monoklonaal muizenantilichaam dat wordt geproduceerd als een weefselweeksupernatant en wordt geleverd in tris-gebufferde fysiologische zoutoplossing met dragereiwit, met als conserveringsmiddel 0,35% ProClin™950.

Totale volume = 7 ml / 30 ml.

Kloon

6F11.

Immunogeen

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

Specificiteit

Humane oestrogenreceptor.

Subklasse

IgG1.

Totale eiwitconcentratie

Ongeveer 10 mg/ml.

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 0,88 mg/l zoals bepaald door ELISA.

Methode

ER (6F11) werd opgewekt tegen recombinant ER-eiwit afgeleid van het mRNA van MCF-7-cellen. Balb/c-muizen werden geïmmuniseerd met het resulterende recombinante (His)6-ER-antigeen. De screening werd uitgevoerd door middel van ELISA, waarbij ELISA-positieve supernatanten immunohistochemisch werden getest op met formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde coupes van borstcarcinomen met een bekende receptorstatus. Kolonies met een positieve immunohistochemische kleuring werden gekloneerd door middel van beperkende verdunning.

Verdunnen en mengen

Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond wordt geleverd in een optimale verdunning voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) in combinatie met Bond Polymer Refine Detection. Verdere verdunning kan tot een verlies van antieenkleuring leiden. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd. 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. Raadpleeg "Using BOND-reagentia" (BOND -reagentia gebruiken) in de BOND-gebruikersdocumentatie.

Benodigde, maar niet meegeleverde materialen

Zie "Using BOND-reagentia" (BOND -reagentia gebruiken) in de BOND-gebruikersdocumentatie voor een volledige lijst van de materialen die nodig zijn voor monsterbehandeling en immunohistochemische kleuring met het BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2-8 °C. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het etiket van de verpakking staat.

Tekenen van contaminatie en/of instabiliteit van Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond zijn: troebelheid van de oplossing, geurontwikkeling en aanwezigheid van precipitaat.

Direct na gebruik weer bij 2-8 °C opslaan.

Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geleverd.

Monsterpreparatie

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

Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor gebruik bij in-vitrodiagnostiek.
- De concentratie van ProClin™ 950 is 0,35%. Het bevat het werkzame bestanddeel 2-methyl-4-isothiazolone-3-on en kan irritatie van de huid, ogen, slijmvliezen en bovenste luchtwegen veroorzaken. Draag wegwerphandschoenen bij het omgaan met reagentia.
- Een kopie van het veiligheidsinformatieblad kunt u verkrijgen bij uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems of via de website van Leica Biosystems op www.LeicaBiosystems.com
- Monsters, zowel voor als na de fixatie, en alle materialen die aan de monsters zijn blootgesteld, moeten als infectieus materiaal worden beschouwd en moeten worden afgevoerd onder inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen². U mag reagentia nooit met de mond pipetteren en moet aanraking van de huid en slijmvliezen met reagentia of monsters vermijden. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, moet u deze wassen met een overvloedige hoeveelheid water. Raadpleeg een arts.
- Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor de afvoer van alle potentieel giftige stoffen.
- Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen.
- Andere retrieval-technieken, incubatietijden of temperaturen dan hierin vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Gebruiksaanwijzing

Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond werd ontwikkeld voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) in combinatie met Bond Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringprotocol voor Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond is IHC Protocol F. Warmte-geïnduceerde epitop-retrieval wordt aanbevolen met gebruik van Bond Epitope Retrieval Solution 1 gedurende 20 minuten.

Kwaliteitscontrole

Raadpleeg "Using BOND-reagentia" (BOND-reagentia gebruiken) in de BOND-gebruikersdocumentatie.

Problemen oplossen

Raadpleeg referentie 3 voor het verhelpen van eventuele problemen.

Neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om een ongebruikelijke kleuring te melden.

Interpretatie van de kleuring

Raadpleeg "Using BOND-reagentia" (BOND-reagentia gebruiken) in de BOND-gebruikersdocumentatie.

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, ontdoien, 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 inbeddingsmethode, of aan intrinsieke onregelmatigheden in het weefsel.
- Een te sterke of onvolledige tegenkleuring kan een juiste interpretatie van de resultaten bemoeilijken of onmogelijk maken.
- De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet geëvalueerd worden in de context van de klinische presentatie, de morfologie en andere histopathologische gegevens. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste positieve en negatieve interne en externe controles, en andere diagnostische tests. Het is de verantwoordelijkheid van een bevoegd patholoog die vertrouwd is met het juiste gebruik van IHC-antilichamen, -reagentia en -methoden om alle stappen te interpreteren die gevolgd zijn om het uiteindelijke IHC-preparaat te maken en te interpreteren.
- De fabrikant levert deze antilichamen/reagentia in een optimale verdunning voor gebruik volgens de verstrekte instructies voor IHC op geprepareerde weefselcoupes of cytologische preparaten. Elke afwijking van de aanbevolen testprocedures kan de opgegeven verwachte resultaten ongeldig maken; het is nodig om de juiste controles toe te passen en deze te documenteren. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid voor de interpretatie van patiëntenresultaten aanvaarden.
- Dit product is niet bedoeld voor gebruik bij flowcytometrie. De prestatiekenmerken bij flowcytometrisch gebruik zijn niet vastgesteld. Weefsels die afkomstig zijn van met hepatitis B-virus geïnfecteerde personen en die hepatitis B-oppervlakteantigeen (HBsAg) bevatten, kunnen een niet-specifieke kleuring vertonen met mierikswortelperoxidase (HRP).
- Reagentia kunnen onverwachte reacties vertonen in niet eerder onderzochte weefsels. Ook in weefselgroepen die al wel eerder zijn onderzocht, kunnen onverwachte reacties niet volledig worden uitgesloten, vanwege de variabiliteit van antigenexpressie in neoplasma's en andere pathologische weefsels.
- Normaal serum/niet-immuuserum dat afkomstig is uit dezelfde dierlijke bron als het secundaire antiserum dat in de blokkeerstappen wordt gebruikt, kan fout-negatieve of fout-positieve resultaten geven door de aanwezigheid van autoantilichamen of natuurlijke antilichamen.
- Fout-positieve resultaten kunnen voorkomen als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door pseudoperoxidaseactiviteit (erythrocyten), endogene peroxidaseactiviteit (cytochrom c) of endogene biotine (bv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring.

Productspecifieke beperkingen

Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met Bond Polymer Refine Detection en BOND-hulpreeagentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid voor de interpretatie van patiëntenresultaten onder deze omstandigheden aanvaarden. Protocoltijden kunnen variëren door variatie in weefselfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moeten empirisch worden bepaald. Bij het optimaliseren van de omstandigheden voor antigeen-retrieval en de protocoltijden moeten negatieve reagenscontroles worden gebruikt.

Prestatiekenmerken

Reproduceerbaarheid

De intra-run-reproduceerbaarheid van kleuring met Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond werd bepaald door kleuring van 10 coupes van hetzelfde weefsel gebruikmakend van Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 van de 10 objectglasjes hadden een positieve kleuring. De specificiteit en de intensiteit van de kleuring waren vergelijkbaar voor alle objectglasjes (verschillen waren <1).

De inter-run-reproduceerbaarheid van kleuring met Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond werd bepaald door kleuring van 10 coupes van hetzelfde weefsel in 3 verschillende kleuringruns, gebruikmakend van Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). In elke run hadden 10 van de 10 objectglasjes een positieve kleuring. De specificiteit en de intensiteit van de kleuring waren vergelijkbaar voor alle objectglasjes (verschillen waren <1).

Immunoreactiviteit

Tabel 1: Reactiviteit van Estrogen Receptor Clone 6F11 gebruiksklaar primair antilichaam voor Bond op normale weefsels

Weefsel	Aantal casussen	Beschrijving van de kleuring	Kleuringsintensiteit (0-3+)
Bijnier	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Hersenen, cerebellum	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Hersenen, cerebrum	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Borst	3	Melkgangkernen in 2/3 weefsels	3+
Cervix	3	Variabele kernkleuring in het meerlagige plaveiselcel epitheel van de ectocervix, cellen van het cervicale stroma en klierweefsel	1-2+
Colon	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Slokdarm	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Hart	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Nier	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Lever	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Long	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Mesotheliale cellen	1	Geen kleuring van weefselementen	0
Ovarium	3	Zwakke variabele kernkleuring in een klein percentage van de cellen van het ovariële stroma. Positieve kernkleuring van de <i>theca externa</i> die zich uitbreidt in het ovariële stroma in een percentage van de ovariële follikels.	1-2+
Pancreas	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Perifere zenuw	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Hypofyse	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Prostaat	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Speekselklier/ onderkaakspeekselklier (glandula submandibularis)	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Skeletspier	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Huid	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Dunne darm	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Milt	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Maag	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Testis	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Thymus	2	Geen kleuring van weefselementen	0
Schildklier	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Tonsil	3	Geen kleuring van weefselementen	0
Uterus	3	Variabele kernkleuring van cellen van het endometriale/myometriale stroma	1+
Beenmerg	3	Geen kleuring van weefselementen	0

Uitleg van kleuringsintensiteit:

- 0 - Negatief
- 1+ - Zwak
- 2+ - Gemiddeld
- 3+ - Sterk

Normale weefsels

Kloon 6F11 detecteert het oestrogenreceptor-alfa-antigeen in de kernen van cellen die ER in hoge mate tot expressie brengen, een deel van de endometrium-, ovarium- en myometriumcellen, en normale melkgangcellen in de borst.

Gepubliceerde immunoreactiviteit

De karakterisering van ER (6F11) tijdens de ontwikkeling van het antilichaam bestond onder meer uit een vergelijkende evaluatie van een reeks van 55 sequentiële borstcarcinomen. De evaluatie werd uitgevoerd met routinematig bewerkte, met formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselmonsters die met zowel ER (6F11) als ER (1D5) werden gekleurd. Voor 50/55 casussen werd een overeenkomstig kleuringsresultaat waargenomen¹⁶.

De oestrogenreceptorstatus werd geëvalueerd voor 592 casussen, gebruikmakend van routinematig bewerkte, in paraffine ingebedde weefselmonsters van primaire borstcarcinomen en kleuring met ER (6F11) en ER (1D5). Over het geheel genomen vertoonden ER (1D5) en ER (6F11) een overeenstemmingspercentage van 97,5%¹⁶.

Overige informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND-reagentia vindt u onder de titels Principle of the procedure (Principe van de procedure), Materials required (Benodigde materialen), Specimen preparation (Monsterpreparatie), Quality control (Kwaliteitscontrole), Assay verification (Verificatie van de assay), Interpretation of staining (Interpretatie van de kleuring), Key to symbols on labels (Verklaring van symbolen op etiketten) en General limitations (Algemene beperkingen) in "Using BOND reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND.

Literatuurlijst

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Datum uitgave

27 juni 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11

Bruksklart primært antistoff for Bond™

Katalognr.: PA0151 (7 ml) / PA0009 (30 ml)

Tiltenkt bruk

Denne reagensen er til *in vitro*-diagnostisk bruk.

Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond monoklonalt antistoff skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopi av human estrogenreseptor (ER) i formalinfiksert, parafinnstøpt vev med immunhistokjemisk farging ved bruk av det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond binder spesifikt til ER-antigenet som finnes i nukleusen til ER-positive normale og neoplastiske celler.

ER (6F11) er indisert som et hjelpemiddel for håndtering, prognostisering og predikering av behandlingsresultatet ved brystkreft. Den kliniske tolkningen av en farging eller utblett farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester.

Sammendrag og forklaring

ER-innholdet i brystkreftvev er en viktig parameter for prediksjonen av prognose og respons på endokrinbehandling. Innføringen av monoklonale antistoffer i ER har gjort det mulig å utføre bestemmelse av reseptorstatus for brysttumorer i vanlige histopatologilaboratorier. ER (6F11) er et monoklonalt antistoff fra mus som er rettet mot det humane estrogenreseptormolekylet. Et prokaryotisk rekombinant protein, tilsvarende hele lengden til det humane ER-molekylet, ble brukt som immunogenet. ER (6F11) har vist seg å reagere med et 66 kD-protein fra MCF-7-cellelysater via Western-blot⁴.

Prinsipp for prosedyren

Immunhistokjemiske teknikker kan brukes til å demonstrere tilstedeværelsen av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen). Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond er et bruksklart produkt som er spesielt optimert for bruk med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med Bond Polymer Refine Detection. anbefalt fargingsprotokoll for Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond er IHC Protocol F. Varmeindusert epitopgjenfinning anbefales med bruk av Bond Epitope Retrieval Solution 1 i 20 minutter. Bond Polymer Refine Detection bruker en ny kontrollert polymeriseringsteknologi for å klargjøre polymeriske HRP-bindende antistoffkonjugater. Deteksjonssystemet unngår bruk av streptavidin og biotin, og eliminerer derfor ikke-spesifikk farging som følge av endogen biotin.

Bond Polymer Refine Detection fungerer som følger:

- Prøven er inkubert med hydrogenperoksid for å redusere endogen peroksidaseaktivitet
- Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond påføres
- En post-primær antistoffløsning forsterker penetrasjonen av etterfølgende polymerreagens
- En poly-HRP anti-mus/-kanin IgG-reagens lokaliserer det primære antistoffet
- Substratkromogen, 3,3'-diaminbenzidin (DAB), visualiserer komplekset via et brunt presipitat
- Kontrastfarging med hematoksylin (blå) gir visualisering av cellenukleus.

Ved å bruke Bond Polymer Refine Detection i kombinasjon med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reduserer muligheten for menneskelig feil og iboende variabilitet som følge av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagenspåføring.

Medfølgende reagens

Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond er et antihumant monoklonalt antistoff fra mus som er produsert som en vevskultursupernatant, og leveres i Tris-bufret saltvann med bæreprotein med 0,35 % ProClin. 950 som konserveringsmiddel.

Totalvolum = 7 ml / 30 ml.

Klon

6F11.

Immunogen

Prokaryotic rekombinant protein som tilsvarer hele lengden til alfa-formen av det humane estrogenreseptormolekylet.

Spesifisitet

Human estrogenreseptor.

Underklasse

IgG1.

Total proteinkonsentrasjon

Ca. 10 mg/ml.

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 0,88 mg/l som fastslått av ELISA.

Metode

ER (6F11) ble hevet mot rekombinant ER-protein utledet fra mRNA-et til MCF-7-celler. Balb/c-mus ble immunisert med det resulterende (His)6-ER-rekombinante antigenet. Screening ble utført av ELISA, med ELISA-positive supernatanter testet i IHC på formalinfikserte, parafininnstøpte snitt av brystkarsinom med kjent reseptorstatus. Kolonier som viste positiv immunhistokjemisk farging, ble klonet ved å begrense fortykning.

Fortynning og blanding

Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond er et bruksklart produkt som er spesielt optimalt for bruk med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med Bond Polymer Refine Detection. Ytterligere fortykning kan forårsake tap av antigenfarging. Brukeren må validere enhver slik endring. Forskjeller i vevprosessering og tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan frembringe signifikant variasjon i resultatene og gjør det påkrevd med regelmessige interne ytelseskontroller. Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

Nødvendige materialer som ikke følger med

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen for å finne en fullstendig liste over materialer som trengs for prøvebehandling og immunhistokjemisk farging ved bruk av BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på beholderens etikett.

Tegn som indikerer kontaminasjon og/eller ustabilitet for Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond er: turbiditet i løsningen, utvikling av lukt, og tilstedeværelse presipitater.

Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor, må verifiseres av brukeren.

Prøveklargjøring

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralt bufret formalin for parafininnstøpte vevsnitt.

Forholdsregler

- Dette produktet er beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk.
- Konsentrasjonen av ProClin™950 er 0,35 %. Det inneholder den aktive ingrediensen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on, og kan forårsake irritasjon på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker ved håndtering av reagenser.
- Hvis du ønsker et eksemplar av sikkerhetsdatatabladet, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems-nettstedet på www.LeicaBiosystems.com
- Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som utsettes for dem, skal håndteres som smittefarlige og avhendes etter egnede forholdsregler². Reagenser skal aldri pipetteres med munnen, og unngå at reagenser eller prøver kommer i kontakt med hud eller slimhinner. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skylld med rikelige mengder vann. Oppsøk lege.
- Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for bortskaffing av eventuelle potensielle giftkomponenter.
- Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i ikke-spesifikk farging.
- Annen innsamling, inkuberingsstid eller temperatur enn de som er angitt, kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

Bruksanvisning

Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond er utviklet for bruk med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med Bond Polymer Refine Detection. Anbefalt fargingsprotokoll for Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond er IHC Protocol F. Varmeindusert epitopgjennfinning anbefales med bruk av Bond Epitope Retrieval Solution 1 i 20 minutter.

Kvalitetskontroll

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

Feilsøking

Se referanse 3 for utbedringstiltak.

Kontakt din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems for å rapportere uvanlig farging.

Tolkning av farging

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

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, optining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, farging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpningsmetoder eller uregelmessigheter i vevet.
- Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan hindre riktig tolkning av resultater.
- Den kliniske tolkningen av eventuell positiv eller negativ farging skal evalueres innenfor rammen av klinisk presentasjon, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske tolkningen av eventuell positiv eller negativ farging skal fullføres av morfologistudier ved bruk av egnede positive og negative interne og eksterne kontroller så vel som andre diagnostiske tester. Det er den kvalifiserte

patologen, som er kjent med egnet bruk av IHC-antistoffer, reagenser og metoder, som har ansvaret for å tolke alle trinnene som brukes til å klargjøre og tolke det endelige IHC-preparatet.

- Produsenten leverer disse antistoffene/reagensene med optimal fortykning for bruk i henhold til de medfølgende instruksjonene for IHC på klargjorte vevssnitt eller cytologisk preparat. Ethvert avvik fra de anbefalte testprosedyrene kan ugyldiggjøre erklærte forventede resultater. Egnede kontroller må anvendes og dokumenteres. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultatene.
- Dette produktet er ikke ment for bruk i flowcytometri. Ytelseegenskaper har ikke blitt fastslått for flowcytometri. Vev fra personer som er infisert med hepatitt B-virus og som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg) kan vise ikke-spesifikk farging med pepperrotperoksidase.
- Reagenser kan vise uventede reaksjoner i tidligere utestede vev. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke fullstendig elimineres pga. biologisk variabilitet i antigenuttrykk i neoplasmer, eller annet patologisk vev.
- Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antiserer kan brukes i blokkeringstrinn, kan forårsake falske negative eller flaske positive resultater pga. autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
- Falske positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan også forårsakes av pseudoperoksidase-aktivitet (erytrocytter), endogen peroksidaseaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av type immunfarging som brukes.

Produktspesifikke begrensninger

Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond har blitt optimert hos Leica Biosystems til bruk med Bond Polymer Refine Detection og BOND-hjelpereagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultatene under disse forholdene. Protokolltidene kan variere pga. variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkningen, og må fastslås empirisk. Det skal brukes negative reagenskontroller når forbehandlingsforhold og protokolltider optimeres.

Karakteristikk for yteevne

Reproduserbarhet

Innen kjøring-reproduserbarhet av farging med Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond ble fastslått ved å farge 10 snitt av samme vev ved hjelp av Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 av 10 objektglass fikk positiv farging. Alle objektglass farget med lignende fargingsspesifisitet og -intensitet (variasjon < 1).

Mellom kjøring-reproduserbarhet av farging med Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond ble fastslått ved å farge 10 snitt av samme vev i 3 forskjellige fargingskjøringer med Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800). 10 av 10 objektglass fikk positiv farging i hver kjøring. Alle objektglass farget med lignende fargingsspesifisitet og -intensitet (variasjon < 1).

Immunreaktivitet

Tabell 1: Reaktivitet for Estrogen Receptor Clone 6F11 bruksklart primært antistoff for Bond på normale vev

Vev	Antall kasus	Beskrivelse av farging	Fargingsintensitet (0–3+)
Binyre	3	Ingen farging av vevselementer	0
Hjerne, cerebellum	3	Ingen farging av vevselementer	0
Hjerne, cerebrum	3	Ingen farging av vevselementer	0
Bryst	3	Kanalnukleus i 2/3 vev	3+
Livmorhals	3	Variabel nukleusfarging i det stratifiserte plateepitelet til ectocervix, stromaceller i livmorhals og kjertelvev	1–2+
Tykktarm	3	Ingen farging av vevselementer	0
Spiserør	3	Ingen farging av vevselementer	0
Hjerte	3	Ingen farging av vevselementer	0
Nyre	3	Ingen farging av vevselementer	0
Lever	3	Ingen farging av vevselementer	0
Lunge	3	Ingen farging av vevselementer	0
Mesoteliale celler	1	Ingen farging av vevselementer	0
Eggstokk	3	Svak, variabel nukleusfarging av en liten prosentandel av stromaceller i eggstokk. Positiv nukleusfarging av <i>theca externa</i> -forgrening inn i eggstokkstroma i en prosentandel av eggstokkfollikler.	1–2+

Vev	Antall kasus	Beskrivelse av farging	Fargingsintensitet (0–3+)
Bukspyttkjertel	3	Ingen farging av vevselementer	0
Perifer nerve	3	Ingen farging av vevselementer	0
Hypofyse	3	Ingen farging av vevselementer	0
Prostata	3	Ingen farging av vevselementer	0
Spyttkjertel/ submandibularis	3	Ingen farging av vevselementer	0
Skjelettmuskel	3	Ingen farging av vevselementer	0
Hud	3	Ingen farging av vevselementer	0
Tynntarm	3	Ingen farging av vevselementer	0
Milt	3	Ingen farging av vevselementer	0
Mage	3	Ingen farging av vevselementer	0
Testikkel	3	Ingen farging av vevselementer	0
Brissel	2	Ingen farging av vevselementer	0
Skjoldkjertel	3	Ingen farging av vevselementer	0
Mandel	3	Ingen farging av vevselementer	0
Livmor	3	Variabel nukleusfarging av endometrie-/ myometriestromaceller	1+
Benmarg	3	Ingen farging av vevselementer	0

Symbolforklaring for fargingsintensitet:

0 - Negativ

1+ - Svak

2+ - Moderat

3+ - Sterk

Normale vev

Klon 6F11 påviser estrogenreseptorens alfa-antigen i nukleus i celler som uttrykker høye nivåer av ER, i en andel endometrie-, eggstokk- og myometrieceller, og i normale brystkanalceller.

Publisert immunreaktivitet

Karakterisering av ER (6F11) under antistoffutvikling inkluderte en komparativ evaluering av en rekke med 55 sekvensielle brystkarsinomer. De evaluerte vevene var rutinemessig behandlede formalinfikserte, parafininnstøpte prøver farget med både ER (6F11) og ER (1D5). Det ble observert samsvar i farging for 50/55 kasus⁴.

Estrogenreseptorstatus ble evaluert i 592 kasus ved bruk av rutinemessig klargjorte parafininnstøpte vevsprøver fra primære brystkarsinomer med ER (6F11) og ER (1D5). Totalt hadde ER (1D5) og ER (6F11) en samsvarsverdi på 97,5 %¹⁶.

Mer informasjon

Mer informasjon om immunfarging med BOND-reagenser, under overskriftene Prosedyreprinsipp, Nødvendige materialer, Prøvepreparering, Kvalitetskontroll, Analyseverifisering, Tolkning av farging, Symbolforklaring på etiketter og Generelle begrensninger, finner du under "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Utstedelsesdato

27 juni 2016

Estrogen Receptor Clone 6F11 Bond™ için Kullanıma Hazır Primer Antikor

Katalog No: PA0151 (7 mL) / PA0009 (30 mL)

Kullanım Amacı

Bu reaktif *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, formalinle fikse edilmiş, parafin bloklarda saklanmış dokuda otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanılarak immünohistokimyasal boyama yoluyla, ışık mikroskopisiyle insan östrojen reseptörünü (ER) nitel olarak belirlemek için kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, ER pozitif normal ve neoplastik hücrelerin çekirdeğinde yer alan ER antijenine spesifik olarak bağlanır.

ER (6F11), meme kanserinin yönetiminde, prognozunda ve tedavisinin sonucunun öngörülmesinde yardım amaçlı olarak kullanım için endikedir. Herhangi bir boyanmanın veya yokluğunun klinik yorumlaması hastanın klinik öyküsü ve diğer diagnostik testler bağlamında vasıfı bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

Özet ve Açıklama

Meme kanseri dokusunun ER içeriği, endokrin tedavisine verilen yanıtın ve prognozun öngörülmesine önemli parametrelerden biridir. ER'de monoklonal antikorların kullanılmaya başlaması, meme tümörlerinin reseptör durumlarının rutin histopatoloji laboratuvarlarında belirlenebilmesine olanak tanımıştır. ER (6F11), insan östrojen reseptör molekülüne yönlendirilen bir fare monoklonal antikorudur. Tam uzunlukta insan ER molekülüne karşılık gelen bir prokaryotik rekombinant protein, immünojen olarak kullanılmıştır. Western blot protokolü yoluyla ER (6F11)'nin MCF-7 hücre lizatlarından elde edilen 66 kD proteini ile reaksiyona girdiği gösterilmiştir.⁴

İşlemin Prensibi

İmmünohistokimyasal teknikler doku ve hücrelerde antijen varlığını göstermek amacıyla kullanılabilir (BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne bakınız). Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, Bond Polymer Refine Detection ile kombine olarak otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) üzerinde kullanım için özel olarak optimize edilmiş, kullanıma hazır bir üründür. Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'dir. 20 dakika Bond Epitope Retrieval Solution 1 solüsyonu kullanılarak ısı etkisiyle epitop geri kazanımı (heat induced epitope retrieval) önerilir. Bond Polymer Refine Detection polimerik HRP linker (bağlantı oluşturu) antikor konjugatları hazırlamak için yeni bir kontrollü polimerizasyon teknolojisi kullanılır. Bu teşhis sisteminde streptavidin ve biotin kullanımından kaçınıldığından dolayı, endojen biotin nedeniyle nonspesifik boyama olasılığı ortadan kaldırılır.

Bond Polymer Refine Detection şu şekilde çalışır:

- Numune hidrojen peroksit ile inkübe edilerek endojen peroksidad aktivitesi giderilir
- Estrogen Receptor Clone 6F11 Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor uygulanır
- Bir post primer antikor solüsyonu daha sonra polimer reaktifinin penetrasyonunu artırır
- Bir poli-HRP anti-fare/tavşan IgG reaktifi, primer antikorunun yerini belirler
- Substrat kromojeni, 3,3'- diaminobenzidin (DAB) kahverengi bir çökelti yoluyla kompleksi görselleştirir
- Hematoksilin (mavi) karşı boyaması ise hücre çekirdeklerinin görselleştirilmesine olanak tanır.

Bond Polymer Refine Detection, otomatik BOND sistemiyle (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) birlikte kullanıldığında, reaktiflerin tek tek dilüsyonu, manuel pipetleme ve reaktif uygulamadan kaynaklanan değişkenlik ve insan hatası olasılığı azaltılır.

Sağlanan Reaktif

Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, supernatan doku kültürü olarak üretilen bir fare anti-insan monoklonal antikorudur ve koruyucu madde olarak %0,35 ProClin 950 içeren taşıyıcı proteine sahip Tris tamponlanmış salin içerisinde temin edilir.

Toplam hacim = 7 mL / 30 mL.

Klon

6F11.

İmmünojen

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

Özgüllük

İnsan östrojen reseptörü.

Alt sınıf

IgG1.

Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL.

Antikor Konsantrasyonu

ELISA ile ölçüm sonucunda 0,88 mg/L veya daha yüksek.

Yöntem

ER (6F11), MCF-7 hücrelerinin mRNA'sından türetilen rekombinant ER proteini karşısında yetiştirilmiştir. Balb/c fareleri, ortaya çıkan (His)6-ER rekombinant antijeni ile immünize edilmiştir. Tarama işlemi ELISA ile yapılmış olup ELISA sonucu pozitif olan supernatanlar bilinen reseptör durumuna sahip meme kansinonunun formalinle fikse edilmiş, parafin bloklarda saklanmış kesitleri üzerinde IHC işlemi ile test edilmiştir. Pozitif immünohistokimyasal boyama gösteren koloniler, sınırlandırma dilüsyonu yoluyla klonlanmıştır.

Sevreltme ve Karıştırma

Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, Bond Polymer Refine Detection ile kombine olarak otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) üzerinde kullanımı için optimum olarak sevreltilmiştir. Daha fazla sevreltme antijen boyanması kaybına yol açabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Kullanıcının laboratuvarında doku işleme ve teknik işlemlerdeki farklar sonuçlarda önemli değişkenliğe neden olabilir ve düzenli şekilde tesis içi kontrollerin kullanılmasını gerektirir. BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne başvurun.

Gereken Ama Sağlanmayan Materyaller

BOND sistemini (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanarak numune muamelesi ve immünohistokimyasal boyama için gerekli materyallerin tam bir listesi için BOND belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne başvurun.

Saklama ve Stabilitte

2-8 °C'de saklayın. Kap etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

Estrogen Receptor Clone 6F11 Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikoru kontaminasyon ve/veya instabilitesini gösteren belirtiler şunlardır: solüsyonda bulanıklık, koku oluşumu ve çökeltili varlığı.

Kullanımdan sonra hemen 2-8 °C'ye tekrar koyun.

Yukarıda belirtilenler dışında saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Numune Hazırlama

Parafine gömülü doku kesitleri için önerilen fiksatif %10 nötr tamponlanmış formalindir.

Önlemler

- Bu ürünün *in vitro* diagnostik amaçlarla kullanılması amaçlanmıştır.
- ProCln™ 950 konsantrasyonu %0,35'tir. Etken madde olarak 2-metil-4-izotiazolin-3-one içerir ve cilt, gözler, mukoza ve üst solunum yollarında tahrişe neden olabilir. Reaktifleri kullanırken tek kullanımlık eldivenler takın.
- Material Safety Data Sheet'in (Materyal Güvenlik Veri Sayfası) bir kopyasını elde etmek üzere Leica Biosystems yerel distribütörünüz veya bölge ofisiyle irtibat kurun veya alternatif olarak Leica Biosystems'in www.LeicaBiosystems.com Web sitesini ziyaret edin.
- Fiksasyonu öncesinde ve sonrasında numuneler ve bunlara maruz kalmış tüm materyallere enfeksiyon bulaştırabilirlermiş gibi davranılması ve uygun önlemlerle atılmaları gerekir². Reaktifleri asla ağızınızla pipetlemeyin ve cilt ve müköz membranların reaktifler veya numunelere temas etmesinden kaçının. Reaktifler veya numuneler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.
- Herhangi bir toksik olabilecek bileşenin atılması açısından yerel, bölgesel veya ulusal düzenlemelere başvurun.
- Reaktiflerin mikrobiyel kontaminasyonunu minimuma indirin yoksa nonspesifik boyanmada bir artış olabilir.
- Belirtilenler dışında geri alma, inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanma Talimatları

Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, Bond Polymer Refine Detection ile kombine olarak otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) üzerinde kullanımı için geliştirilmiştir. Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'dir. 20 dakika Bond Epitope Retrieval Solution 1 solüsyonu kullanılarak ısı etkisiyle epitop geri kazanımı (heat induced epitope retrieval) önerilir.

Kalite Kontrol

BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne başvurun.

Sorun Giderme

Düzeltilme işlemi için referans 3'e başvurun.

Olağandışı boyanmayı bildirmek için Leica Biosystems yerel distribütörünüz veya bölge ofisiyle irtibat kurun.

Boyamanın Yorumlanması

BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne başvurun.

Genel Sınırlamalar

- İmmünohistokimya; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi, IHC slaytının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması alanlarında özel eğitimden oluşan, çok adımlı bir diagnostik süreçtir.
- Doku boyama, boyamanın öncesinde dokunun muamele ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktları, antikor tutulmasına veya yalancı negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçların nedeni fiksasyon ve gömme yöntemlerinde değişiklikler veya dokunun tabiatına bağlı düzensizlikler olabilir.
- Aşırı veya tam olmayan karşı boyama sonuçların uygun yorumlanmasını olumsuz etkileyebilir.
- Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, uygun pozitif ve negatif dahili ve harici kontrollerin yanı sıra diğer diagnostik testler kullanılarak morfolojik incelemeler ile desteklenmelidir. Nihai IHC preparatının hazırlanması ve yorumlanması için kullanılan adımların tümünün yorumlanması, IHC antikorları, reaktifler ve yöntemlerin uygun şekilde kullanılması

konusunda bilgi sahibi olan, yetkin bir patoloji uzmanının sorumluluğundadır.

- Üretici bu antikorları/reaktifleri, hazırlanmış doku kesitleri veya sitolojik preparat üzerinde IHC için sağlanan talimata uygun olarak, kullanım için optimum dilüsyonda temin eder. Önerilen test işlemlerine herhangi bir şekilde uyulmaması durumunda, bildirilen beklenen sonuçlar geçersiz kalabilir; uygun kontroller kullanılmalı ve belgelenmelidir. Önerilen test işlemlerinden sapan kullanıcılar hasta sonuçlarının yorumlanmasının sorumluluğunu almalıdır.
- Bu ürün, akış sitometrisi için kullanılmak üzere tasarlanmamıştır. Akış sitometrisi için performans özellikleri belirlenmemiştir. Hepatit B virüsü ile enfekte kişilerden alınan ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren dokular, yabancu peroksidaz ile nonspesifik boyama sergileyebilir.
- Reaktifler, daha önce test edilmemiş dokularda beklenmeyen reaksiyonlar gösterebilir. Neoplazmlar veya diğer patolojik dokularda antijen ekspresyonunun biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilmiş doku gruplarında dahi beklenmeyen reaksiyon olasılığı tamamen ekarte edilemez.
- Bloklama adımlarında sekonder antiserum olarak kullanılan, aynı hayvan kaynağından alınan normal/immün olmayan serumlar, oto-antikorlar veya doğal antikorlar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara sebep olabilir.
- Proteinler veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünojenik olmayan bağlanması nedeniyle yalancı pozitif sonuçlar görülebilir. Bu sonuçlar ayrıca, kullanılan immün-boyaya bağlı olarak psödoperoksidaz aktivitesi (eritrositler), endojen peroksidaz aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biotinden (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) de kaynaklanabilir.

Ürüne Spesifik Sınırlamalar

Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor, Bond Polymer Refine Detection ve BOND yardımcı reaktifleriyle kullanım için Leica Biosystems'da optimize edilmiştir. Önerilen test işlemlerinden sapan kullanıcılar bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasının sorumluluğunu almalıdır. Doku fiksasyonu ve antijen alımının etkinliğindeki değişkenlikler nedeniyle protokol süreleri değişiklik gösterebilir ve ampirik olarak belirlenmelidir. Geri kazanım koşulları ve protokol sürelerini optimize ederken negatif reaktif kontrolleri kullanılmalıdır.

Performans Nitelikleri

Çoğaltılabilirlik

Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor ile çalışma içi çoğaltılabilirlik Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800) kullanılarak aynı dokuya ait 10 adet kesit boyanarak belirlenmiştir. 10 slaytın 10'u pozitif boyanmıştır. Tüm slaytlar benzer boyama özgülüğü ve yoğunluğu ile boyanmıştır (değişkenlik <1).

Estrogen Receptor Clone 6F11, Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikor ile çalışmalar arası çoğaltılabilirlik Leica Biosystems Bond Polymer Refine Detection (DS9800) kullanılarak aynı dokuya ait 10 adet kesit, 3 farklı boyama çalışmasında boyanarak belirlenmiştir. Her çalışmada 10 slaytın 10'u pozitif boyanmıştır. Tüm slaytlar benzer boyama özgülüğü ve yoğunluğu ile boyanmıştır (değişkenlik <1).

İmmünoreaktivite

Tablo 1: Estrogen Receptor Clone 6F11 Bond için Kullanıma Hazır Primer Antikoron Normal Dokular üzerindeki Reaktivitesi

Doku	Vaka Sayısı	Boyama Açıklaması	Boyama Yoğunluğu (0-3+)
Adrenal	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Beyin, Serebellum	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Beyin, Serebrum	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Meme	3	2/3 dokuda kanal çekirdekleri	3+
Serviks	3	Ektoserviks, servikal stromal hücreler ve glandüler dokunun katmanlar halinde skuamöz epitelinde değişken çekirdek boyaması	1-2+
Kolon	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Özofagus	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Kalp	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Böbrek	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Karaciğer	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Akciğer	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Mezotelyal hücreler	1	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0

Over	3	Ovaryen stromal hücrelerin küçük bir bölümünde siliik değişken çekirdek boyaması. Ovaryen foliküllerin bir bölümünde ovaryen stromaya dallanan <i>theca externa</i> 'da pozitif çekirdek boyaması.	1-2+
------	---	--	------

Doku	Vaka Sayısı	Boyama Açıklaması	Boyama Yoğunluğu (0-3+)
Pankreas	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Periferik sinir	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Pitüiter	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Prostat	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Tükürük Bezi/ Submandibüler Bez	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
İskelet Kası	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Deri	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
İnce Bağırsak	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Dalak	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Mide	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Testis	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Timus	2	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Tiroid	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Bademcik	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0
Uterus	3	Endometrial/miyometrial stromal hücrelerde değişken çekirdek boyaması	1+
Kemik İliği	3	Doku ögelerinde boyama görülmedi	0

Boyama Yoğunluk Anahtarı:

- 0 - Negatif
- 1+ - Hafif
- 2+ - Orta
- 3+ - Yoğun

Normal Dokular

Klon 6F11, endometrial, ovaryen ve miyometrial hücrelerin bir bölümünü, normal meme duktal hücrelerini ve yüksek düzeylerde ER'i eksprese eden hücrelerin çekirdeklerinde östrojen reseptörü alfa antijenini tespit eder.

Yayınlanmış İmmünoreaktivite

Antikor geliştirme çalışmaları sırasında yürütülen ER (6F11) karakterizasyonu kapsamında 55 sıralı meme kanserinden oluşan bir seri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirilen dokular, rutin olarak işlenen formalinle fikse edilip parafin bloklarında saklanan ve hem ER (6F11) hem de ER (1D5) kullanılarak boyanan numunelerdir. 50/55 vaka için boyama uyumu gözlenmiştir⁴.

Östrojen reseptör durumu 592 vakada, ER (6F11) ve ER (1D5) ile primer meme kanserlerinden elde edilen rutin olarak hazırlanmış parafin bloklarında saklanan doku örnekleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Genel olarak, ER (1D5) and ER (6F11) %97,5 oranında uyum göstermiştir¹⁶.

Daha Fazla Bilgi

BOND reaktifleri ile immün-boyama hakkında daha fazla bilgi BOND kullanıcı belgelerinizde "BOND Reaktiflerinin Kullanımı"

bölümündeki Principle of the Procedure (İşlem Prensipleri), Materials Required (Gereken Materyaller), Specimen Preparation (Numune Hazırlama), Quality Control (Kalite Kontrol), Assay Verification (Tahsil Doğrulama), Interpretation of Staining (Boyanmanın Yorumlanması), Key to Symbols on Labels (Etiketlerdeki Semboller için Anahtar) ve General Limitations (Genel Sınırlamalar) başlıkları altında bulunabilir.

Bibliyografya

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. 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.
5. 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.
6. Dabbs DJ, Landrenau RJ, Liu Y et al. Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(2), 403–405.
7. 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.
8. Radzikowska E, Langfort R and Giedronowicz D. Estrogen and progesterone receptors in non small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8(2), 69–73.
9. 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.
10. 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.
11. 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. *Domest Anim Endocrinol* 2000; 18(1), 111–125.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Kaplan, P.A. et. al. 1D5 and 6F11 an immunohistochemical comparison of two monoclonal antibodies for the evaluation of estrogen receptor status in primary breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005: 276–280.

Yayın Tarihi

27 Haziran 2016

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