

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Androgen Receptor



**Product Code: NCL-L-AR-318**

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



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

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

## Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

## Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

## Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

## Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

## Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

## Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

## Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## Check the integrity of the packaging before use.

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

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

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

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

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Пред применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody

## Androgen Receptor

### Product Code: NCL-L-AR-318

#### Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-AR-318 is intended for the qualitative identification by light microscopy of androgen receptor protein in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

#### Principle of Procedure

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

#### Clone

AR27

#### Immunogen

Prokaryotic recombinant protein of 321 amino acids representing the N-terminus of the human androgen receptor.

#### Specificity

Human androgen receptor.

#### Reagent Composition

NCL-L-AR-318 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

#### Ig Class

IgG1

#### Total Protein Concentration Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

#### Antibody Concentration

Greater than or equal to 45 mg/L. Refer to vial label for lot specific Ig concentration.

#### Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

**Heat Induced Epitope Retrieval (HIER):** Please follow the instructions for use in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Storage and Stability

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

#### Specimen Preparation

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

#### Warnings and Precautions

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

This reagent contains sodium azide. A Material Safety Data Sheet is available upon request or available from [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions.<sup>1</sup> Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.

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

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

## Quality Control

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

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

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

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

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

Recommended positive control tissue is skin.

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

## Negative Tissue Control

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

Recommended negative control tissue is cerebellum.

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

Non-specific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain non-specifically.<sup>3</sup> False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by endogenous enzymes such as pseudoperoxidase (erythrocytes), endogenous peroxidase (cytochrome C), or endogenous biotin (eg. liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used. To differentiate endogenous enzyme activity or non-specific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate chromogen or enzyme complexes (avidin-biotin, streptavidin, labeled polymer) and substrate-chromogen, respectively. If specific staining occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

## Negative Reagent Control

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

## Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-AR-318 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

## Results Expected

### Normal Tissues

Clone AR27 detected the human androgen receptor (AR) protein in the nucleus of epithelium and muscle of prostate, spermatogonia and Leydig cells of the testes. Staining was also observed in squamous epithelium and adnexal structures of the skin, squamous epithelium and smooth muscle of cervix, ductal epithelium of the breast, stromal cells of ovary, stromal and glandular cells of endometrium, invaginated epithelium of tonsil, transitional epithelium of bladder, proximal convoluted tubules of kidney, and epithelial cells of larynx. (Total number of normal cases evaluated = 134).

### Abnormal Tissues

Clone AR27 stained 15/25 breast tumors (including 12/22 ductal carcinomas, 2/2 fibroadenomas and 1/1 lobular carcinomas), 2/2 prostatic adenocarcinomas, 1/4 hepatocellular carcinomas, 1/3 ovarian tumors, 1/2 clear cell carcinomas of the kidney, 1/2 tumors of the salivary gland, 1/2 adenocarcinomas of the uterus and 1/1 prostatic hyperplasia. No staining was detected in a variety of additional abnormal tissues evaluated, including bowel tumors (0/9), thyroid tumors (0/5), metastatic tumors (0/5), brain tumors (0/4), lung tumors (0/4), lymphomas (0/3), tumors of the esophagus (0/3), stomach tumors (0/3), tumors of the adrenal gland (0/2), bladder tumors (0/2), bone tumors (0/2), tumors of the head and neck (0/2), seminomas (0/2), cervical tumors (0/2), a tongue tumor (0/1), a pancreatic tumor (0/1), a skin tumor (0/1), and a melanoma (0/1). (Total number of abnormal cases evaluated = 93).

**AR-318 (AR27) is recommended for the detection of Androgen Receptor (AR) protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.**

## General Limitations

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

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

Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

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

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

## **Bibliography - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

## **Amendments to Previous Issue**

Not Applicable.

## **Date of Issue**

02 May 2019

# Anticorps monoclonal de souris liquide Novocastra™

## Androgen Receptor

### Référence du Produit : NCL-L-AR-318

#### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-AR-318 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la protéine du récepteur androgène sur coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

#### Principe de la Procédure

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

#### Clone

AR27

#### Immunogène

Protéine recombinante procaryotique de 321 acides aminés représentant la région N-terminale du récepteur androgène humain.

#### Spécificité

Récepteur androgène humain.

#### Composition du Réactif

Le NCL-L-AR-318 est un supernageant de culture tissulaire liquide contenant un conservateur constitué d'azoture de sodium.

#### Classe d'Ig

IgG1

#### Concentration Totale en Protéines

Total Protein

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

#### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 45 mg/l. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

#### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Récupération des épitopes induite par la chaleur (HIER, Heat Induced Epitope Retrieval) :** Veuillez respecter le mode d'emploi de la Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Conservation et Stabilité

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

#### Préparation des Spécimens

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

#### Mises en Garde et Précautions

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

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

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

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

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

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

### **Contrôle de Qualité**

Des différences de traitement des tissus et de procédures techniques du laboratoire de l'utilisateur sont susceptibles de conduire à une variabilité significative des résultats, ce qui rend nécessaire la mise en œuvre de contrôles en interne en plus des procédures suivantes. Les contrôles doivent être des spécimens frais provenant d'autopsies, de biopsies ou d'interventions chirurgicales, fixés au formol, traités et inclus en cire de paraffine dès que possible, de la même façon que le(s) échantillon(s) de patient.

### **Tissu de Contrôle Positif**

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

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

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

Le tissu de contrôle positif recommandé est la peau.

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

### **Tissu de Contrôle Négatif**

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

Le cervelet constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

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

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

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

### **Réactif de Contrôle Négatif**

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

### **Tissu du Patient**

Examinez les spécimens de patient marqués avec le NCL-L-AR-318 en dernier. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

### **Résultats Attendus**

#### Tissus normaux

Le clone AR27 a détecté la protéine du récepteur androgène (RA) humain dans le noyau de l'épithélium et du muscle de la prostate, les spermatozoïdes et les cellules de Leydig de la testicule. Le marquage a également été observé dans l'épithélium squameux et les structures annexes de la peau, l'épithélium squameux et le muscle lisse du col de l'utérus, l'épithélium canalaire du sein, des cellules stromales de l'ovaire, les cellules stromales et glandulaires de l'endomètre, l'épithélium invaginé de l'amygdale, l'épithélium transitionnel de la vessie, les tubules contournés proximaux du rein et les cellules épithéliales du larynx. (Nombre total de cas normaux évalués = 134).

#### Tissus anormaux

Le clone AR27 a marqué 15/25 tumeurs du sein (dont 12/22 carcinomes canauxaires, 2/2 fibroadénomes et 1/1 carcinome lobulaire), 2/2 adénocarcinomes de la prostate, 1/4 carcinomes hépatocellulaires, 1/3 tumeurs de l'ovaire, 1/2 carcinomes à cellules claires du rein, 1/2 tumeurs de la glande salivaire, 1/2 adénocarcinomes de l'utérus et 1/1 hyperplasie de la prostate. Aucun marquage n'a été détecté dans une variété de tissus anormaux évalués, y compris les tumeurs de l'intestin (0/9), tumeurs de la thyroïde (0/5), tumeurs métastatiques (0/5), tumeurs du cerveau (0/4), tumeurs du poumon (0/4), lymphomes (0/3), tumeurs de l'œsophage (0/3), tumeurs de l'estomac (0/3), tumeurs de la surrénale (0/2), tumeurs de la vessie (0/2), tumeurs osseuses (0/2), tumeurs de la tête et du cou (0/2), séminomes (0/2), tumeurs cervicales (0/2), une tumeur de la langue (0/1), une tumeur du pancréas (0/1), une tumeur de la peau (0/1) et un mélanome (0/1). (Nombre total de cas anormaux évalués = 93).

**AR-318 (AR27) est recommandé pour la détection de la protéine du récepteur androgène (RA) dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.**

## Limites Générales

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

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

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

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

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

## Bibliographie Générale

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

Sans objet.

## Date de Publication

02 mai 2019



# Anticorpo monoclonale murino liquido Novocastra™

## Androgen Receptor

### Codice Del Prodotto: NCL-L-AR-318

#### Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-AR-318 è previsto per l'identificazione qualitativa in microscopia ottica della proteina del recettore degli androgeni in sezioni in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

#### Principio Della Procedura

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

#### Clone

AR27

#### Immunogeno

Proteina ricombinante procariotica di 321 aminoacidi che rappresenta l'N-terminale del recettore degli androgeni umani.

#### Specificità

Recettore degli androgeni umani.

#### Composizione Del Reagente

NCL-L-AR-318 è un supernatante liquido di coltura tissutale contenente sodio azide come conservante.

#### Classe Ig

IgG1

#### Concentrazione Proteica Totale Total Protein

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

#### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 45 mg/l. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

#### Raccomandazioni Per L'uso

Immunocitochimica su sezioni incluse in paraffina.

**Recupero dell'epitopo mediante calore (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Seguire le istruzioni per l'uso accluse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Conservazione E Stabilità

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

#### Preparazione Del Campione Biologico

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

#### Avvertenze E Precauzioni

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

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

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

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

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

### Controllo Qualità

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

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

### Controllo Positivo Del Tessuto

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

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

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

Il tessuto raccomandato per il controllo positivo è la pelle.

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

### Controllo Negativo Del Tessuto

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

Il tessuto raccomandato per il controllo negativo è il cervello.

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

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

### Controllo Negativo Del Reagente

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

### Tessuto Del Paziente

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-AR-318. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunostochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

### Risultati Attesi

#### Tessuti normali

Il clone AR27 ha rilevato la proteina del recettore degli androgeni umani (AR) nel nucleo dell'epitelio e nel muscolo della prostata, spermatozoni e cellule di Leydig dei testicoli. È stata inoltre osservata una colorazione nell'epitelio squamoso e nelle strutture annessiali della pelle, epitelio squamoso e muscolo liscio della cervice, epitelio duttale della mammella, cellule ovariche stromali, cellule endometriali stromali e ghiandolari, epitelio tonsillare invaginato, epitelio di transizione della vescica, tubuli renali convolti prossimali e cellule epiteliali della laringe. (Numero complessivo di casi normali valutati = 134).

#### Abnorme dei tessuti

Il clone AR27 ha marcato 15/25 tumori della mammella (compresi 12/22 carcinomi duttali, 2/2 fibroadenomi e 1/1 carcinomi lobulari), 2/2 adenocarcinomi prostatici, 1/4 carcinomi epatocellulari, 1/3 tumori ovarici, 1/2 carcinomi renali a cellule chiare, 1/2 tumori della ghiandola salivare, 1/2 adenocarcinomi uterini e 1/1 iperplasia prostatica. Non è stata rilevata alcuna colorazione in un'ampia gamma di tessuti anormali aggiuntivi valutati, compresi tumori intestinali (0/9), tumori tiroidei (0/5), tumori metastatici (0/5), tumori cerebrali (0/4), tumori polmonari (0/4), linfomi (0/3), tumori esofagei (0/3), tumori gastrici (0/3), tumori della ghiandola surrenale (0/2), tumori della vescica (0/2), tumori ossei (0/2), tumori della testa e del collo (0/2), seminomi (0/2), tumori della cervice (0/2), un tumore della lingua (0/1), un tumore pancreatico (0/1), un tumore della pelle (0/1) e un melanoma (0/1). (Numero complessivo di casi anormali valutati = 93).

**L'uso di AR-318 (AR27) è consigliato per il rilevamento della proteina del recettore degli androgeni (AR) in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale delle colorazioni istochimiche non immunologiche.**

### Limitazioni Generali

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

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

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

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

### **Riferimenti Bibliografici Di Base**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181-190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855-50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865-3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

### **Modifiche Alla Pubblicazione Precedente**

Non pertinente.

### **Data Di Pubblicazione**

02 maggio 2019

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper

## Androgen Receptor

### Produkt-Nr.: NCL-L-AR-318

#### Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-AR-318 ist für den qualitativen Nachweis von Androgenrezeptor-Protein in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie vorgesehen. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

#### Verfahrensgrundlage

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

#### Klon

AR27

#### Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Protein aus 321 Aminosäuren, die den N-Terminus des humanen Androgenrezeptors repräsentieren.

#### Spezifität

Humaner Androgenrezeptor.

#### Reagenzzusammensetzung

NCL-L-AR-318 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand mit Natriumazid als Konservierungsmittel.

#### Ig-Klasse

IgG1

#### Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

#### Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 45 mg/l. Hinsichtlich der chargenspezifischen Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

#### Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten.

**Heat Induced Epitope Retrieval (HIER, hitzeinduzierte Epitopdemaskierung):** Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9 befolgen.

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

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

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

#### Lagerung und Stabilität

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

#### Probenvorbereitung

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

#### Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

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

Dieses Reagenz enthält Natriumazid. Ein Material Sicherheits-Datenblatt ist auf Anfrage von [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) erhältlich.

Die entsprechenden nationalen und lokalen Bestimmungen und Vorschriften zur Entsorgung potentiell giftiger Komponenten sind einzuhalten.

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

### **Qualitätskontrolle**

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

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

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Für die positive Gewebekontrolle wird Haut empfohlen.

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

### **Negative Gewebekontrolle**

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

Für die negative Gewebekontrolle wird Kleinhirn empfohlen.

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

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

### **Negative Reagenzkontrolle**

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

### **Patientengewebe**

Mit NCL-L-AR-318 angefarbte Patientenproben zuletzt untersuchen. Eine positive Färbintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Bei Bedarf sollte zur Identifizierung falsch-negativer Reaktionen eine Gruppe von Antikörpern verwendet werden.

### **Erwartete Ergebnisse**

#### Normale Gewebe

Klon AR27 wies das humane Androgenrezeptor(AR)-Protein im Kern von Epithel- und Muskelzellen der Prostata, Spermato gonien und Leydig-Zellen der Hoden nach. Zudem wurde bei Plattenepithel und Anhangsstrukturen der Haut, Plattenepithel und glatten Muskelzellen der Zervix, Duktusepithel der Brust, Stromazellen der Eierstöcke, Stroma- und Drüsenzellen des Endometriums, eingestülptem Tonsillenepithel, Übergangsepithel der Harnblase, proximalen Konvoluten der Nierentubuli und Epithelzellen des Kehlkopfs eine Färbung beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeproben = 134).

#### Anomale Gewebe

Klon AR27 färbte 15/25 Mammatumoren (darunter 12/22 dukta len Karzinomen, 2/2 Fibroadenomen und 1/1 lobulärem Karzinom), 2/2 Prostata-Adenokarzinomen, 1/4 Leberzellkarzinomen, 1/3 Eierstocktumoren, 1/2 hellzelligem Nierentumoren, 1/2 Speicheldrüsentumoren, 1/2 Uterus-Adenokarzinomen und 1/1 Prostatahyperplasie. Bei einer Reihe weiterer untersuchter pathologischer Gewebe, darunter Darmtumore (0/9), Schilddrüsentumore (0/5), metastatische Tumore (0/5), Gehirntumore (0/4), Lungentumore (0/4), Lymphome (0/3), Speiseröhrentumore (0/3), Magentumore (0/3), Nebennierentumore (0/2), Blasen tumore (0/2), Knochentumore (0/2), Kopf-Hals-Tumore (0/2), Seminome (0/2), Zervixtumore (0/2), ein Zungentumor (0/1), ein Pankreastumor (0/1), ein Hauttumor (0/1) und ein Melanom (0/1), wurde keine Färbung nachgewiesen. (Gesamtzahl der untersuchten pathologischen Gewebeproben = 93).

**AR-318 (AR27) wird für den Nachweis von Androgenrezeptor(AR)-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.**

## Allgemeine Beschränkungen

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

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

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

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

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

## Literatur - Allgemein

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

Nicht anwendbar.

## Ausgabedatum

02 Mai 2019

# Anticuerpo monoclonal líquido de ratón Novocastra™

## Androgen Receptor

### Código De Producto: NCL-L-AR-318

#### Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-AR-318 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de la proteína receptora de andrógeno. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Principio Del Procedimiento

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

#### Clon

AR27

#### Inmunógeno

Proteína procarionótica recombinante de 321 aminoácidos que constituye el extremo N terminal del receptor de andrógeno humano.

#### Especificidad

Receptor de andrógeno humano.

#### Composición Del Reactivo

NCL-L-AR-318 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

#### Clase de Ig

IgG1

#### Concentración Total De Proteína

Total Protein

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

#### Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 45 mg/l. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

#### Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

**Recuperación de epítomos termoinducida (HIER):** Siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Almacenamiento Y Estabilidad

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

#### Preparación De Las Muestras

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

#### Advertencias Y Precauciones

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

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

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

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

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica. Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

### Control De Calidad

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

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

### Control Tisular Positivo

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

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

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

El tejido de control positivo recomendado es piel.

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

### Control Tisular Negativo

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

El tejido de control negativo recomendado es cerebello.

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

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

### Control De Reactivo Negativo

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

### Tejido Del Paciente

Examine las muestras de pacientes teñidas con NCL-L-AR-318 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

### Resultados esperados

#### Tejidos normales

El clon AR27 detectó la proteína receptora de andrógeno (AR) humana en el núcleo del epitelio y el músculo de la próstata, los espermatogonios y las células de Leydig de los testículos. También se observó tinción en el epitelio escamoso y las estructuras anexas de la piel, el epitelio escamoso y el músculo liso del cuello uterino, el epitelio ductal de las mamas, las células estromales de los ovarios, las células estromales y glandulares del endometrio, el epitelio invaginado de las amígdalas, el epitelio transicional de la vejiga, los túbulos convolutos proximales de los riñones y las células epiteliales de la laringe. (Cifra total de casos normales evaluados = 134).

#### Anormal del tejido

El clon AR27 tiñó 15/25 tumores mamarios (incluidos 12/22 carcinomas ductales, 2/2 fibroadenomas y 1/1 carcinoma lobular), 2/2 adenocarcinomas prostáticos, 1/4 carcinomas hepatocelulares, 1/3 tumores ováricos, 1/2 carcinomas de células claras renales, 1/2 tumores de las glándulas salivales, 1/2 adenocarcinomas uterinos y 1/1 hiperplasia prostática. No se detectó tinción en diversos tejidos anormales adicionales evaluados, incluidos tumores intestinales (0/9), tumores tiroideos (0/5), tumores metastásicos (0/5), tumores cerebrales (0/4), tumores pulmonares (0/4), linfomas (0/3), tumores esofágicos (0/3), tumores gástricos (0/3), tumores de la glándula suprarrenal (0/2), tumores vesicales (0/2), tumores cutáneos (0/2), tumores de cabeza y cuello (0/2), seminomas (0/2), tumores cervicales (0/2), un tumor de lengua (0/1), un tumor pancreático (0/1), un tumor óseo (0/1) y un melanoma (0/1). (Cifra total de casos anormales evaluados = 93).

**AR-318 (AR27) está recomendado para la detección de proteína receptora de andrógeno (AR) en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.**



## Limitaciones Generales

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

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

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

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

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

## Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Correcciones A La Publicación Anterior

No corresponde.

## Fecha De Publicación

02 de mayo de 2019

# Anticorpo monoclonal líquido de rato Novocastra™

## Androgen Receptor

### Código Do Produto: NCL-L-AR-318

#### Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

O NCL-L-AR-318 destina-se à identificação qualitativa, por microscopia ótica, da proteína de recetor de androgénios em cortes em parafina. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

#### Princípio Do Procedimento

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

#### Clone

AR27

#### Imunogénio

Proteína recombinante procarciótica de 321 aminoácidos que representam o N-terminal do recetor de androgénios humano.

#### Especificidade

Recetor de androgénios humano.

#### Composição Do Reagente

O NCL-L-AR-318 é um sobrenadante líquido de cultura de tecidos contendo azida de sódio como conservante.

#### Classe De Ig

IgG1

#### Concentração Total De Proteína Total Protein

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

#### Concentração De Anticorpo

Igual ou superior a 45 mg/l. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

#### Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

**Recuperação de epítipo induzida por calor (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Siga as instruções de utilização de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Armazenamento E Estabilidade

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

#### Preparação Das Amostras

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

#### Avisos E Precauções

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

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

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

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

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

Os períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados poderão dar azo a resultados errados.

Todas as alterações desse tipo devem ser validadas pelo utilizador.

## Controlo Da Qualidade

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

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

## Controlo De Tecido Positivo

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

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

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

O tecido de controlo positivo recomendado é a pele.

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

## Controlo De Tecido Negativo

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

O tecido de controlo negativo recomendado é o cerebelo.

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

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

## Controlo De Reagente Negativo

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

## Tecido Do Doente

Examinar as amostras de doentes coradas com NCL-L-AR-318 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

## Resultados Previstos

### Tecidos normais

O clone AR27 detetou a proteína do recetor de androgénios (AR) humano no núcleo do epitélio e músculo da próstata, espermatogónia e células de Leydig dos testículos. Foi igualmente observada coloração no epitélio escamoso e estruturas anexas da pele, no epitélio escamoso e no músculo liso do colo do útero, no epitélio ductal da mama, nas células do estroma do ovário, nas células do estroma e glandulares do endométrio, no epitélio invaginado da amígdala, no epitélio de transição da bexiga, nos túbulos convolutos proximais do rim e nas células epiteliais da laringe. (Número total de casos normais avaliados = 134.)

### Tecidos anormal

O clone AR27 corou 15/25 tumores mamários (incluindo 12/22 carcinomas ductais, 2/2 fibroadenomas e 1/1 carcinomas lobulares), 2/2 adenocarcinomas prostáticos, 1/4 carcinomas hepatocelulares, 1/3 tumores ováricos, 1/2 carcinomas de células claras do rim, 1/2 tumores da glândula salivar, 1/2 adenocarcinomas do útero e 1/1 hiperplasia prostática. Não foi detetada coloração numa variedade de tecidos anormais adicionais avaliados, incluindo tumores intestinais (0/9), tumores da tiroide (0/5), tumores metastáticos (0/5), tumores cerebrais (0/4), tumores pulmonares (0/4), linfomas (0/3), tumores do esófago (0/3), tumores gástricos (0/3), tumores da glândula suprarrenal (0/2), tumores da bexiga (0/2), tumores ósseos (0/2), tumores da cabeça e do pescoço (0/2), seminomas (0/2), tumores do colo do útero (0/2), um tumor da língua (0/1), um tumor pancreático (0/1), um tumor cutâneo (0/1) e um melanoma (0/1). (Número total de casos anormais avaliados = 93.)

**O AR-318 (AR27) é recomendado para a deteção da proteína do recetor de androgénios (AR) em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.**

## Limitações Gerais

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

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

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

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

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

## Bibliografia - Geral

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Emendas Da Edição Anterior

Não aplicável.

## Data De Emissão

02 de Maio de 2019

# Novocastra™ flytande monoklonal antikropp från mus

## Androgen Receptor

### Produktkod: NCL-L-AR-318

#### Avsedd Användning

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-AR-318 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av androgenreceptor-protein i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

#### Metodens Princip

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

#### Klon

AR27

#### Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant protein av 321 aminosyror motsvarande den N-terminala delen av den humana androgenreceptorn.

#### Specifitet

Human androgenreceptor.

#### Reagensinnehåll

NCL-L-AR-318 är en flytande supernatant från vävnadskultur innehållande natriumazid som konserveringsmedel.

#### Ig-klass

IgG1

#### Total Proteinkoncentration Total Protein

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

#### Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 45 mg/l. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

#### Rekommendationer Vid Användning

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

**Värmeinducerad epitopåtervinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Följ bruksanvisningen för Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Förvaring Och Stabilitet

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

#### Preparation Av Prov

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### Varningar Och Försiktighetsåtgärder

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

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

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

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

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

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

## Kvalitetskontroll

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

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

## Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

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

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

Hud rekommenderas som positiv kontrollvävnad.

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

## Negativ Vävnadskontroll

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

Cerebellum rekommenderas som negativ kontrollvävnad.

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

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

## Negativ Reagenskontroll

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

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-AR-318 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all specifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en antikroppspanel för att identifiera falskt negativa reaktioner.

## Förväntade Resultat

### Normal vävnad

Klon AR27 detekterade det humana androgenreceptor-proteinet i kärnan hos epitel och musklerna i prostata, spermatogoni och Leydig-celler i testiklarna. Färgning observerades även i skivepitellet och adnexa strukturer i huden, skivepitellet och glatt muskelvävnad i cervix, dukalt epitel i bröstet, stomaceller i äggstock, stroma- och körtelceller i endometrium, invaginerat epitel i tonsill, övergångsepitellet i urinblåsa, pars convoluta i proximala njurtubuli och epitelceller i struphuvud. (Totalt antal utvärderade normalfall = 134).

### Onormal vävnad

Klon AR27 färgade 15/25 brösttumörer (bland annat 12/22 dukala karcinom, 2/2 fibroadenom och 1/1 lobulära karcinom), 2/2 prostataadenokarcinom, 1/4 hepatocellulära karcinom, 1/3 äggstockstumörer, 1/2 klarcellskarcinom i njuren, 1/2 tumör i salivkörteln, 1/2 adenokarcinom i uterus och 1/1 hyperplasi i prostata. Ingen infärgning detekterades hos ett flertal andra onormala vävnader som utvärderades, bland annat matstumörer (0/9), sköldkörteltumörer (0/5), metastaserande tumörer (0/5), hjärntumörer (0/4), lungtumörer (0/4), lymfom (0/3), tumörer i matstrupe (0/3), magsäckstumörer (0/3), tumörer i binjuren (0/2), tumörer i urinblåsan (0/2), skelettumörer (0/2), tumörer i huvud och hals (0/2), seminom (0/2), livmoderhalstumörer (0/2), en tumör i tungan (0/1), en tumör i pankreas (0/1), en hudtumör (0/1) och ett melanom (0/1). (Totalt antal utvärderade onormala fall = 93).

**AR-318 (AR27) rekommenderas för detektering av androgenreceptor-protein i normala och neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska färgstoffer.**

## Allmänna Begränsningar

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

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

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

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

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

## Bibliografi - Allmän

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Rättelser Av Tidigare Utgivning

Inte tillämpligt.

## Utgivningsdatum

02 maj 2019

# Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Novocastra™

## Androgen Receptor

### Κωδικός είδους: NCL-L-AR-318

#### Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το NCL-L-AR-318 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της πρωτεΐνης του υποδοχέα ανδρογόνων σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

#### Αρχή Της Διαδικασίας

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

#### Κλώνος

AR27

#### Ανοσογόνο

Προκαρκωτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη 321 αμινοξέων που αντιπροσωπεύει το αμινοτελικό άκρο του υποδοχέα ανδρογόνων.

#### Ειδικότητα

Ανθρώπινος υποδοχέας ανδρογόνων.

#### Σύνθεση Αντιδραστηρίου

Το NCL-L-AR-318 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

#### Τάξη Ig

IgG1

#### Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

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

#### Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 45 mg/l. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

#### Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε παρασκευάσματα παραφίνης.

**Ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης του Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Φύλαξη Και Σταθερότητα

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

#### Παρασκευή Δείγματος

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

#### Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

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

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

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



Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετάδοση λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις<sup>1</sup> Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.

Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.

Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοιες μεταβολές πρέπει να επικυρώνονται από το χρήστη.

## Ποιοτικός Έλεγχος

Τυχόν διαφορές στην επεξεργασία των ιστών και τις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική μεταβλητότητα στα αποτελέσματα, καθιστώντας αναγκαία την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων επιπλέον των ακόλουθων διαδικασιών. Οι μάρτυρες θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα νεκροψίας/βιοψίας/χειρουργικά δείγματα, τα οποία είναι μονιμοποιημένα σε φορμόλη, επεξεργασμένα και εγκλεισμένα σε κηρό παραφίνης, το συντομότερο δυνατό με τον ίδιο τρόπο με το(α) δείγμα(τα) του ασθενούς.

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

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

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

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

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι το δέρμα.

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επίσημησης του αντιγόνου-στόχου από το πρωτοταγές αντίσωμα.

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι η παρεγκεφαλίδα.

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

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστήριου

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

## Ιστός Ασθενούς

Εξέτασε τα δείγματα ασθενών που έχουν υποβληθεί σε χρώση με NCL-L-AR-318 τελευταία. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί Ιστού

Ο κλώνος AR27 εντόπισε την πρωτεΐνη του ανθρώπινου υποδοχέα ανδρογόνων (AR) στον πυρήνα του επιθηλίου και στον μυ του προστάτη, στα σπερματογόνια και στα κύτταρα Leydig των όρχεων. Χρώση παρατηρήθηκε επίσης στο πλακώδες επιθήλιο και στα εξαρτήματα του δέρματος, στο πλακώδες επιθήλιο και στους λείους μύες του τραχήλου, στο πορογενές επιθήλιο του μαστού, στα στρωματικά κύτταρα της ωθήκης, στα στρωματικά και τα αδενικά κύτταρα του ενδομητρίου, στο εγκλωπιωμένο επιθήλιο της αμυγδαλής, στο μεταβατικό επιθήλιο της ουροδόχου κύστης, στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια του νεφρού και στα επιθηλιακά κύτταρα του λάρυγγα. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 134).

### Ανώμαλη Ιστού

Ο κλώνος AR27 προκάλεσε χρώση σε 15/25 όγκους του μαστού (συμπεριλαμβανομένων 12/22 πορογενών καρκινωμάτων, 2/2 ινοαδενομάτων και 1/1 λοβιακών καρκινωμάτων), 2/2 αδενοκαρκινώματα του προστάτη, 1/4 ηπατοκυτταρικά καρκινώματα, 1/3 όγκους των ωοθηκών, 1/2 διαγυκοκυτταρικά καρκινώματα των νεφρών, 1/2 όγκους των σιελογόνων αδένων, 1/2 αδενοκαρκινώματα της μήτρας και 1/1 προσταπική υπερπλασία. Δεν ανιχνεύτηκε χρώση σε διάφορους πρόσθετους μη φυσιολογικούς ιστούς που αξιολογήθηκαν, συμπεριλαμβανομένων όγκων του εντέρου (0/9), όγκων του θυρεοειδούς (0/5), μεταστατικών όγκων (0/5), όγκων του εγκέφαλου (0/4), όγκων των πνευμόνων (0/4), λεμφωμάτων (0/3), όγκων των οισοφάγου (0/3), όγκων του στομάχου (0/3), όγκων των επινεφριδίων (0/2), όγκων της ουροδόχου κύστης (0/2), όγκων των οστών (0/2), όγκων της κεφαλής και του τραχήλου (0/2), σεμινωμάτων (0/2), όγκων του τραχήλου της μήτρας (0/2), ενός όγκου της γλώσσας (0/1), ενός όγκου του παγκρέατος (0/1), ενός όγκου του δέρματος (0/1) και ενός μελανώματος (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 93).

**Το AR-318 (AR27) συνιστάται για την ανίχνευση της πρωτεΐνης του υποδοχέα ανδρογόνων (AR) σε φυσιολογικό και νεοπλασματικό ιστό, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.**

## 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, προετοιμασία της πλάκας IHC και ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης.

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

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

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.

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

## Βιβλιογραφία - Γενική

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F, Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on α2β1-integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Δεν εφαρμόζεται.

## Ημερομηνία Έκδοσης

02 Μαΐου 2019

# Novocastra™ flydende murint monoklonalt antistof

## Androgen Receptor

### Produktkode: NCL-L-AR-318

#### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-AR-318 er beregnet til brug til kvalitativ identifikation med lysmikroskopi af androgen receptorprotein i paraffinsnit. Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

#### Procedureprincip

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

#### Klon

AR27

#### Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein af 321 aminosyrer, der repræsenterer N-terminus i den humane androgenreceptor.

#### Specificitet

Human androgenreceptor.

#### Reagenssammensætning

NCL-L-AR-318 er en flydende vævskultursupernatant, der indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totalproteinkoncentration Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

#### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 45 mg/l Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

#### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Varmeinduceret epitopdemaskering (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Følg brugsanvisningen til Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

#### Opbevaring Og Holdbarhed

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

#### Prøveklargøring

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

#### Advarsler Og Forholdsregler

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

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

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

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

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

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

## Kvalitetskontrol

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

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

## Positiv Vævskontrol

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

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

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

Anbefalet positivt kontrolvæv er hud.

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

## Negativ Vævskontrol

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

Anbefalet væv til negativ kontrol er cerebellum.

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

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

## Negativ Reagenskontrol

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

## Patientvæv

Undersøg patientpræparater farvet med NCL-L-AR-318 til sidst. Intensiteten af positiv farvning bør vurderes i sammenhæng med eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist. Ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Om nødvendigt anvendes et panel af antistoffer til identifikation af falske negative reaktioner.

## Forventede Resultater

### Normalt væv

Klon AR27 påviste det humane androgenreceptor (AR)-protein i nucleus på epitel og prostatamuskel, spermatogonia og i Leydig-celler i testes. Der blev endvidere observeret farvning i pladeepitel og adneksale strukturer i huden, pladeepitel og glatte muskler i cervix, dukalt epitel i bryst, stromaceller i ovarie, stroma- og kirtelceller i endometriet, invaginert epitel i tonsler, transitionalepitel i blære, proximale sammenrullede tubuli renales og epitelceller i larynx. (Samlet antal normale tilfælde, der blev evalueret = 134).

### Abnormt væv

Klon AR27 farvede 15/25 brysttumorer (inklusive 12/22 duktalet karcinomer, 2/2 fibroadenomer og 1/1 lobulært karcinom), 2/2 adenokarcinomer i prostata, 1/4 hepatocellulære karcinomer, 1/3 ovarietumorer, 1/2 clear-cellekarcinomer i nyre, 1/2 tumorer i spytkirtel, 1/2 adenokarcinomer i uterus og 1/1 hyperplasi i prostata. Der blev ikke påvist farvning i en række andre evaluerede unormale væv, inklusive tumorer i tarm (0/9), tumorer i thyroidea (0/5), metastatiske tumorer (0/5), hjernetumorer (0/4), tumorer i lunge (0/4), lymfomer (0/3), tumorer i øsøfagus (0/3), tumorer i mave (0/3), tumorer i binyre (0/2), tumorer i blære (0/2), tumorer i knogle (0/2), tumorer i hoved og hals (0/2), seminomer (0/2), tumorer i cervix (0/2), tumor på tunge (0/1), tumor i pancreas (0/1), tumor i hud (0/1) og et melanom (0/1). (Samlet antal unormale tilfælde, der blev evalueret = 93).

**AR-318 (AR27) anbefales til detektion af androgenreceptor (AR)-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi, der bruger ikke-immunologiske histokemiske farvninger.**

## Generelle Begrænsninger

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

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

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

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

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

## **Bibliografi - Generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

## **Rettelser Til Tidligere Udgave**

Ikke relevant.

## **Udgivelsesdato**

02 maj 2019

# Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muiscantilichaam

## Androgen Receptor

### Productcode: NCL-L-AR-318

#### Beoogd Gebruik

Voor gebruik bij *in-vitro*-diagnostiek.

NCL-L-AR-318 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie met behulp van lichtmicroscopie van androgeenreceptoreiwit in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

#### Beingsel van de Procedure

Immunohistochemische (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam naar het antigen (primaire antilichaam), het secundaire antilichaam naar het primaire antilichaam en een enzymcomplex met een chromogeen substraat met ingevoegde wasstappen. De enzymatische activering van de chromogeenresultaten in een zichtbaar reactieproduct op de antigene plaats. De monsters kunnen dan tegengekleurd en afgedekt zijn. De resultaten worden geïnterpreteerd met een lichtmicroscopie en hulpmiddelen in de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die wel of niet met een specifiek antigen geassocieerd kunnen worden.

#### Kloon

AR27

#### Immunogeen

Prokaryotisch recombinant-eiwit van 321 aminozuren die de N-terminus van de humane androgeenreceptor vertegenwoordigen.

#### Specificiteit

Humane androgeenreceptor.

#### Reagentiasamenstelling

NCL-L-AR-318 is een vloeibaar supernatant van weefselweek dat natriumazide bevat als conserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totale Proteïneconcentratie Total Protein

Raadpleeg het etiket op de flacon voor de specifieke totale proteïneconcentratie.

#### Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 45 mg/l. Raadpleeg het etiket op de flacon voor de specifieke Ig-concentratie.

#### Aanbevelingen over het Gebruik

Immuochemisch op paraffine coupes.

**Warmte-geïnduceerd epitoopherstel (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Volg de instructies voor het gebruik in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

**Vorgestelde verdunning:** 1:25 gedurende 30 minuten bij 25 °C. Dit wordt gezien als een richtlijn en gebruikers dienen hun eigen optimale werkverdunningen te bepalen.

**Visualisatie:** Volg a.u.b. de gebruiksinstructies in de Novolink™ Polymer Detection Systems. Voor meer productinformatie of ondersteuning dient u contact op te nemen uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of de website van Leica Biosystems te bezoeken, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

De prestatie van dit antilichaam dient gevalideerd te worden als het wordt gebruikt met andere handmatige kleuringssystemen of automatische platformen.

#### Opslag en Stabiliteit

Opslaan bij temperaturen van 2–8 °C. Niet bevriezen. Laat het systeem direct na gebruik terugkeren naar een temperatuur van 2–8 °C. Gebruik het product niet meer na de expiratedatum die op de flacon staat. Opslagcondities andere dan degene die hierboven gespecificeerd zijn, dienen door de gebruiker geverifieerd te.

#### Vorbereiding van Monsters

De aanbevolen fixeerstof is 10% neutraal gebufferde formaline voor paraffine ingebedde weefselcoupes.

#### Waarschuwingen en Voorzorgsmaatregelen

Deze reagens is voorbereid van het supernatant van de celweek. Aangezien het biologisch product is, dient u bij het gebruik ervan voorzichtig te werk te gaan.

Deze reagens bevat natriumazide. Een materiaalveiligheidsblad is op verzoek verkrijgbaar bij [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Raadpleeg de richtlijnen van de lokale of nationale overheid voor het afdanken van potentieel giftige componenten.

Monsters moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgedankt. Dit geldt tevens voor alle materialen die aan de monsters zijn blootgesteld.<sup>1</sup>

Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipetteerd. Daarnaast moet contact tussen de huid en het slijmvlies met reagentia en monsters worden vermeden.

Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, moet u deze gebieden wassen met een ruime hoeveelheid water. Neem contact op met een arts.

Minimaliseer de kans van microbacteriële contaminatie van reagentia. Als u dit niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.

Incubatietijden of temperaturen die afwijken van degenen die gespecificeerd zijn, kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Iedere dergelijke verandering moet door de gebruiker gevalideerd worden.

## Kwaliteitscontrole

Verschillen in het verwerken van weefsel en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen zorgen voor een aanzienlijke variabiliteit van de resultaten. Dit vereist een regulier gebruik van bedrijfsgeïmplementeerde controles naast de volgende procedures.

De controles moeten verse autopsie-, biopsie-, of chirurgische monsters omvatten, en zo snel mogelijk formale gefixeerd en in paraffinewax ingebed worden, op dezelfde manier als de patiëntmonster(s).

## Positieve Weefselcontrole

Wordt gebruikt om correct voorbereide weefsels en goede kleuringstechnieken aan te duiden.

Er dient een positieve weefselcontrole opgenomen te worden voor iedere set testcondities in iedere kleuringsrun.

Voor een optimale kwaliteitscontrole en voor het detecteren van geringe niveaus van reagensdegradatie, is weefsel met zwakke positieve kleuring beter geschikt dan weefsel met sterke positieve kleuring.<sup>2</sup>

Aanbevolen positief controleweefsel is huid.

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

## Negatieve Weefselcontrole

Dient onderzocht te worden na de positieve weefselcontrole om de specificiteit te verifiëren van de labeling van het doelantigen door het primaire antilichaam.

Aanbevolen negatieve weefselcontrole is cerebellum.

Daarnaast leveren de verscheidenheid aan celtypen, die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, regelmatig negatieve controlelocaties op, maar dit dient door de gebruiker geverifieerd te worden. Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, heeft meestal een diffuus uiterlijk.

Daarnaast kan in coupes sporadische kleuring van bindweefsel worden geobserveerd. Dit treedt op als gevolg van overdadig fixeren van weefsel met formaline. Maak voor de interpretatie van kleuringsresultaten gebruik van intacte cellen. Necrotische of gedegenererde cellen kunnen vaak een niet-specifieke kleuring vertonen.<sup>3</sup>

Er kan sprake zijn van fout-positieven als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Zij kunnen ook veroorzaakt worden door endogene enzymen zoals pseudoperoxidase (erythrocyten), endogene peroxidase (cytochrom C), of endogene biotine (bijv. lever, borst, hersenen, nieren), afhankelijk van het type immunokleuring dat gebruikt wordt.

Om endogene enzymen of niet-specifieke binding van enzymen van specifieke immunoreactiviteit te differentiëren, kan het zijn dat extra patiëntweefsels exclusief gekleurd wordt met substraat chromogeen of enzymcomplexen (avidine-biotine, streptavidine, gelabeld polymeer) en respectievelijk substraat-chromogeen. Indien specifieke kleuring binnen het interne negatieve controleweefsel optreedt, moeten de resultaten die met de patiëntmonsters zijn verkregen als ongeldig worden beschouwd.

## Negatieve Reagenscontrole

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een coupe van ieder patiëntmonster, om een niet-specifieke kleuring te evalueren en een betere interpretatie te krijgen van de specifieke kleuring op de antigenen plaats.

## Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-AR-318 zijn gekleurd het laatst. De positieve kleuringsintensiteit moet worden geëvalueerd binnen de context van iedere niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Net zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent dus niet dat het antigeen afwezig was in de geanalyseerde cellen/het geanalyseerde weefsel. Gebruik een panel van antilichamen om de verkeerd-negatieve reacties te identificeren.

## Verwachte Resultaten

### Normale weefsels

Kloon AR27 detecteerde het humane androgeenreceptoreiwit (AR) in de kern van epitheel en spierweefsel van de prostaat, spermatogonia en Leydig-cellen van de testes. Kleuring werd ook waargenomen in plaveiselcellepitheel en adnexale structuren van de huid, plaveiselcellepitheel en gladde spierweefsel van de baarmoederhals, ductaal epitheel van de borst, stromale cellen van de eierstok, stromale en kliercellen van het endometrium, geïnvagineerd epitheel van de tonsil, overgangsepitheel van de blaas, proximale tubuli contorti van de nier en epitheelcellen van de larynx. (Totaal aantal normale gevallen dat werd geëvalueerd = 134.)

### Abnormale weefsels

Kloon AR27 kleurde 15/25 borsttumoren (waaronder 12/22 ductale carcinomen, 2/2 fibroadenomen en 1/1 lobulair carcinoom), 2/2 adenocarcinomen van de prostaat, 1/4 hepatocellulaire carcinomen, 1/3 eierstoktumoren, 1/2 'clear cell'-carcinomen van de nier, 1/2 tumoren van de speekselklier, 1/2 adenocarcinomen van de baarmoeder en 1/1 prostaathyperplasie. Er werd geen kleuring waargenomen in verscheidene additionele abnormale weefsels die werden geëvalueerd, waaronder darmtumoren (0/9), schildklier tumoren (0/5), gemetastaseerde tumoren (0/5), hersentumoren (0/4), longtumoren (0/4), lymfomen (0/3), slokdarmtumoren (0/3), maagtumoren (0/3), bijniertumoren (0/2), blaastumoren (0/2), bottumoren (0/2), hoofd- en halstumoren (0/2), seminomen (0/2), baarmoederhalstumoren (0/2), een longtumor (0/1), een pancreastumor (0/1), een huidtumor (0/1) en een melanoom (0/1). (Totaal aantal afwijkende gevallen dat werd geëvalueerd = 93.)

**AR-318 (AR27) wordt aanbevolen voor het detecteren van androgeenreceptoreiwit (AR) in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.**

## Algemene Beperkingen

Immunohistochemie is een diagnoseproces van meerdere stappen dat uit een gespecialiseerde training bestaat in het selecteren van de desbetreffende reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van de IHC-objectglasjes; en de interpretatie van de kleuringresultaten. Weefselkleuring is afhankelijk van het gebruik en de verwerking van het weefsel vóór het aanbrengen van de kleuring. Een onjuiste manier van fixeren, invriezen, ontdoien, wassen, drogen, verwarmen en opdelen of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kunnen leiden tot artefacten, het vastzitten van antilichamen of fout-negatieven. Inconsistente resultaten kunnen het gevolg zijn van variaties in de methoden die voor het fixeren en inbedden worden gebruikt of van inherente onregelmatigheden binnen het weefsel.<sup>4</sup> Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan een correcte interpretatie van de resultaten in te weg zitten.

De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

Antilichamen van Leica Biosystems Newcastle Ltd zijn bedoeld voor gebruik, zoals aangegeven, op bevroren of paraffine ingebedde coupes met specifieke fixatie-eisen. Er kan een onverwachte antigenexpressie optreden, met name in neoplasma's. De klinische interpretatie van ieder gekleurde weefselcoupe moet morfologische analyses bevatten en de evaluatie van de juiste controles.

## Algemene Literatuurlijst

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

## Aanpassingen ten opzichte van Vorige Editie

Niet van toepassing.

## Publicatiedatum

02 mei 2019



# Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff

## Androgen Receptor

### Produktkode: NCL-L-AR-318

#### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-AR-318 skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopi av androgenreseptorprotein i parafinsnitt. Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

#### Prosedyreprinsipp

Immunhistokjemiske (IHC) fargingsteknikker gjør det mulig å se antigener via en sekvensiell tilsetning av et bestemt antistoff mot antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff mot det primære antistoffet og et enzymkompleks med et kromogent substrat med innskutte vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet gir et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter kontrastfarges og dekkes med et dekkglass. Resultatene fortolkes ved hjelp av et lysmikroskop og medvirker til differensialdiagnose av patofysiologiske prosesser som muligens kan være assosiert med et bestemt antigen.

#### Klon

AR27

#### Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein med 321 aminosyrer som representerer N-terminal del av human androgenreseptor.

#### Spesifisitet

Human androgenreseptor.

#### Reagenssammensetning

NCL-L-AR-318 er flytende vevskultursupernatant med natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totalproteinkonsentrasjon Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk totalproteinkonsentrasjon.

#### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 45 mg/l. Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk Ig-konsentrasjon.

#### Anbefalinger for Bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

**Varmeindusert epitopgjenfinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Følg bruksanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

**Foreslått fortynning:** 1:25 i 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjene er veiledende, og brukeren bør selv bestemme egne optimale bruksfortynninger.

**Visualisering:** Følg bruksanvisningen for Novolink™ Polymer Detection Systems. Ønsker du ytterligere produktinformasjon eller -støtte, kan du ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller på nettsidene til Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Ytelsen til dette antistoffet bør valideres ved bruk av andre manuelle fargingssystemer eller automatiske systemer.

#### Oppbevaring og Stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på produktetiketten. Andre oppbevaringsbetingelser må valideres av brukeren.

#### Klargjøring av Prøver

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralbufret formalin for parafinlagrede vevssnitt.

#### Advarsler og Forholdsregler

Denne reagensen er laget av supernatanten fra en cellekultur. Dette er et biologisk produkt som må behandles deretter.

Denne reagensen inneholder natriumazid. Dataark om materialsikkerhet (MSDS) er tilgjengelig på forespørsel eller kan lastes ned fra [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Følg nasjonale og lokale forskrifter for avhending av komponenter som kan være giftige.

Prøver (før og etter fiksering) og alt materiale som eksponeres for dem, skal behandles som potensielt smittefarlig og kasseres i samsvar med gjeldende forholdsregler.<sup>1</sup>

Hold aldri pipetter med reagens i munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver.

Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal de skylles med rikelig vann. Kontakt lege.

Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifisert farging.

Inkubasjonstider eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

## Kvalitetskontroll

Forskjeller i behandlingen av vev og forskjeller i tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan gi signifikant varierte resultater, og det kan være nødvendig å foreta kontroller på stedet i tillegg til prosedyrene angitt nedenfor.

Kontrollene skal være nye autopsi-/biopsi-/kirurgiske prøver, formalinfikserte, behandlede og parafinlagrede så snart som mulig, på samme måte som pasientprøver.

## Positiv Vevskontroll

Brukes for å påvise korrekt vevspreparering og fargeteknikker.

En positiv vevskontroll bør inkluderes for hvert sett med testbetingelser i hver fargerunde.

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

Abbefalt positivt kontrollvev er hud.

Hvis den positive vevskontrollen ikke viser positiv farging, skal resultatene til testprøvene anses som ugyldige.

## Negativ Vevskontroll

Skal undersøkes etter den positive vevskontrollen for å sikre at det primære antistoffet merker målantigenet spesifikt.

Abbefalt negativt kontrollvev er cerebellumvev.

Alternativt har de mange ulike cellyttypene som finnes i de fleste vevssnittene ofte negative kontrollsteder, men dette må verifiseres av brukeren. Uspesifikk farging, hvis dette er aktuelt, har ofte et diffust utseende.

Sporadisk farging av bindevev kan på samme måte observeres i snitt fra vev som er fiksert for kraftig i formalin. Bruk intakte celler for å tolke fargeresultatene. Nekrotiske eller degenererte celler kan ofte farges uspesifikt.<sup>3</sup>

Falske positive resultater kan skyldes ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. Dette kan også skyldes endogene enzymer som pseudoperoksidase (erythrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre), avhengig av anvendt type immunfarge.

For å differensiere endogen enzymaktivitet eller uspesifikk enzymbinding og spesifikk immunreaktivitet kan ytterligere pasientvev eventuelt farges kun med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det skjer spesifikk farging i den negative vevskontrollen, må resultatene for pasientprøvene anses som ugyldige.

## Negativ reagenskontroll

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet på et snitt av hver pasientprøve for å vurdere uspesifikk farging og for å muliggjøre bedre fortolkning av spesifikk farging på antigenstedet.

## Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-AR-318 sist. Intensiteten av positiv farging bør vurderes i sammenheng med eventuell uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med alle immunhistokjemiske tester, betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserte cellene/vevet. Om nødvendig kan man bruke et panel av antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

## Forventede Resultater

### Normalt Vev

Klon AR27 detekterte humant androgenreseptor (AR)-protein i nukleus til epitel og muskel i prostata, spermatogonier og leydigceller i testikkel. Farging ble også observert i plateepitel og adneksale strukturer i hud, plateepitel og glattmuskel i livmorhals, kanalepitel i bryst, stromaceller i eggstokk, stroma- og kjertelceller i endometrium, invaginert epitel i mandel, overgangsepitel i blære, proksimale contourus-nyretubuler og epitelceller i strupehode. (Totalt antall normale tilfeller evaluert = 134.)

### Abnormalt Vev

Klon AR27 farget 15/25 brysttumorer (inkludert 12/22 ductale karsinomer, 2/2 fibroadenomer og 1/1 lobulære karsinomer), 2/2 prostata-adenokarsinomer, 1/4 hepatocellulære karsinomer, 1/3 eggstokktumorer, 1/2 klarcellekarsinomer i nyren, 1/2 spyttkjerteltumorer, 1/2 adenokarsinomer i livmor og 1/1 prostatahyperplasi. Ingen farging ble detektert i en rekke ytterligere unormale vev som ble evaluert, inkludert tarmtumorer (0/9), skjoldbruskjerteltumorer (0/5), metastatiske tumorer (0/5), hjernetumorer (0/4), lungetumorer (0/4), lymfomer (0/3), spiserørtumorer (0/3), magetumorer (0/3), binyretumorer (0/2), blæretumorer (0/2), bentumorer (0/2), hode- og halstumorer (0/2), seminomer (0/2), livmorhalsstumorer (0/2), en tungetumor (0/1), en bukspyttkjerteltumor (0/1), en hudtumor (0/1) og et melanom (0/1). (Totalt antall unormale tilfeller evaluert = 93.)

**AR-318 (AR27) anbefales for deteksjon av androgenreseptor (AR)-protein i normale og neoplastiske vev, som tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.**

## Generelle Begrensninger

Immunhistokjemi er en diagnostisk prosess i flere trinn som omfatter spesialutdanning i valg av egnede reagenser, vevsleksjon, -fiksering og -behandling samt preparering av IHC-objektglass og tolking av fargeresultater. Vevsfarging avhenger av håndteringen og behandlingen av vevet før fargingen. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan gi artefakter, innfangning av antistoffer eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner ved fiksering eller innstøpningsmetoder eller iboende uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup>

Overdreven eller ufullstendig motfarging kan også gjøre det vanskelig å tolke resultatene riktig.

Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd skal brukes, som angitt, på enten frosne eller parafinlagrede snitt med spesifikke krav til fiksering. Uventet antigenekspresjon kan forekomme, spesielt i neoplasma. Den kliniske tolkningen av fargede vevssnitt må omfatte morfologiske analyser og evaluering av egnede kontroller.

## **Bibliografi – Generelt**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

## **Endringer i forhold til Forrige Utgave**

Ikke relevant.

## **Utgivelsesdato**

02 mai 2019

# Novocastra™ Likit Fare Monoklonal Antikoru

## Androgen Receptor

### Ürün Kodu: NCL-L-AR-318

#### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanımı için.

NCL-L-AR-318, parafin kesitlerinde androgen reseptörü proteininin ışık mikroskopisi ile nitel belirlenmesi için amaçlanmıştır. Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

#### Prosedür Prensipleri

İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, spesifik bir antikoru antijene (primer antikor), ikincil bir antikoru primer antikora ve bir enzim kompleksinin kromojenik bir substrat ile arada yıkama adımları olacak şekilde sekansiyel olarak uygulanmasıyla antijenlerin görselleştirilmesini sağlar. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde görülen bir reaksiyon produktü ile sonuçlanır. Numune bu durumda karşıt boyanabilir ve lamellenebilir. Sonuçlar, bir ışık mikroskopu kullanılarak yorumlanır ve özel bir antijenle birleştirilebilen veya birleştirilemeyen patofizyolojik işlemlerin ayırıcı tanısına yardımcı olur.

#### Clone

AR27

#### İmmünojen

İnsan androgen reseptörünün N ucunu temsil eden 321 amino aside karşılık gelen prokaryotik rekombinant protein.

#### Spesifite

İnsan androgen reseptörü.

#### Reagent Kompozisyonu

NCL-L-AR-318, prezervatif olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

#### Ig Sınıfı

IgG1

#### Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özel toplam protein konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

#### Antikor Konsantrasyonu

45 mg/l'ye eşit veya bu değerden yüksek. Lota özel Ig konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

#### Kullanım Tavsiyeleri

Parafin seksiyonlarında immünohistokimya.

**Isı Etkisiyle Epitop Geri Kazanımı (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Lütfen, Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9 için kullanma talimatını izleyin.

**Önerilen dilüsyon:** 25 °C'de 30 dakika için 1:25. Bu bir kılavuz olarak verilmiştir; kullanıcılar, kendilerine özel optimal çalışma dilüsyonlarını belirlemelidirler.

**Görselleştirme:** Novolink™ Polymer Detection System kullanım talimatlarına uyun. Ürüne ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun veya alternatif olarak [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) Leica Biosystems internet sitesini ziyaret edin.

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

#### Saklama ve Dayanıklılık

2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2–8 °C'ye dönün. Viyal etiketinin üzerinde belirtilen son kullanım tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşullarının, kullanıcı tarafından kontrol edilmesi gerekir.

#### Numune Hazırlığı

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

#### Uyarılar ve Önlemler

Bu reagent, hücre kültürünün supernatantından hazırlanmıştır. Bu bir biyolojik ürün olduğundan işlem yaparken özel dikkat gerektirir.

Bu reagent, sodyum azit içerir. Talep üzerine veya [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) 'dan bir Material Safety Data Sheet (Malzeme Güvenlik Veri Sayfası) elde edilebilir.

Potansiyel tüm toksik bileşenlerin imhası için federal, ulusal veya lokal düzenlemelere başvurun.

Fikse etme işleminden önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon yayabilecek gibi ele alınmalı ve doğru önlemler alınarak atığa çıkartılmalıdır.<sup>1</sup>

Reagent'lar asla ağızla pipetlenmemeli ve cildin ve muköz membranların reagent ve numunelerle temasından kaçınılmalıdır.

Reagent veya numunelerin hassas alanlarla temas etmesi durumunda bu alanları bol su ile yıkayın. Doktora başvurun.

Reagent'ların mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi durumda nonspesifik boyamada bir artış ortaya çıkabilir.

Belirtilenlerin dışında inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları, hatalı sonuçlara neden olabilir. Tüm değişiklikler, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kalite Kontrol

Kullanıcının laboratuvarındaki doku işleme ve teknik prosedürlerdeki değişiklikler, sonuçlarda önemli farklılıklara neden olabilir ve aşağıdaki prosedürlere ek olarak dahili kontrollerin düzenli şekilde yapılmasını gerektirir.

Kontrollere, mümkün olan en kısa sürede ve hasta örneği (örnekleri) ile aynı şekilde formalinle fikse edilmiş, işlenmiş ve parafin mumuna gömülmüş taze topso/biyopsi/cerrahi numune olmalıdır.

## Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve düzgün boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

Bir pozitif doku kontrolü, her boyama çalıştırmasında test koşullarının her seti için dahil edilmelidir.

Optimal kalite kontrol için ve reagent degradasyonunun minör düzeylerini tespit etmek için zayıf pozitif boyamaya sahip bir doku, güçlü pozitif boyamaya sahip bir dokudan daha uygundur.<sup>2</sup>

Önerilen pozitif kontrol dokusu deridir.

Pozitif doku kontrolü, pozitif boyamayı göstermezse test numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak ele alınmalıdır.

## Negatif Doku Kontrolü

Pozitif doku kontrolünden sonra hedef antijenin etiketleme spesifitesini primer antikörle kontrol etmek için gerçekleştirilmelidir.

Önerilen negatif kontrol dokusu serebellumdur.

Pek çok doku seksiyonunda bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, genelde negatif kontrol bölgeleri sağlar ancak bu, kullanıcı tarafından kontrol edilmelidir. Nonspesifik boyama, mevcutsa genelde difüz bir görünüme sahiptir.

Bağ dokusu sporadik boyama, aşırı formalinle fikse edilmiş dokulardan seksiyonlarda da gözlemlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanın. Nekrotik veya dejenerer hücreler, genelde belirsiz şekilde boyanabilir.<sup>3</sup>

Yanlış pozitif sonuçlar, substrat reaksiyon ürünleri veya proteinlerin immünojenik olmayan protein bağlanması nedeniyle görülebilir.

Bunlar, kullanılan immüno boyamanın tipine bağlı olarak psödoperoksidad (eritrositler), endojen peroksidad (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimler nedeniyle de ortaya çıkabilir.

Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin nonspesifik bağlanması, spesifik immünoaktiviteden ayırt etmek için ilave hasta dokuları, sadece sırasıyla substrat kromojen veya enzim kompleksleriyle (avidin biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Spesifik boyamanın, negatif doku kontrolünde ortaya çıkması durumunda hasta numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak ele alınmalıdır.

## Negatif Reagent Kontrolü

Antijen bölgede nonspesifik boyamanın değerlendirilmesi ve spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasını sağlamak amacıyla her hasta numunesinin bir seksiyonu ile primer antikörün yerine bir nonspesifik negatif reagent kontrolü kullanın.

## Hasta Dokusu

NCL-L-AR-318 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama intensitesi, negatif reagent kontrolünün herhangi bir nonspesifik arka plan boyamasının kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal test ile negatif bir sonuç, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir; antijenin test edilen hücrelerde/dokuda mevcut olmadığı anlamına gelmez. Gerekiyorsa yanlış negatif reaksiyonları belirlemek için bir antikör paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Klon AR27, insan androjen reseptörü (AR) proteinini prostat epitelyum ve kas hücrelerinin, spermatogonyum ve testis Leydig hücrelerinin nükleusunda saptamıştır. Boyama ayrıca cildin skuamöz epitel ve adneksal yapılarında, serviksin skuamöz epitel ve düz kasında, memenin duktal epitelinde, yumurtalığın stromal hücrelerinde, endometriyumun stromal ve glandüler hücrelerinde, bademciğin içe katlanmış epitelinde, mesanenin değişici epitelinde, böbreğin proksimal kıvrımı tübüllerinde ve larinksin epitel hücrelerinde de gözlenmiştir. (Değerlendirilen toplam normal olgu sayısı = 134).

### Abnormal Dokular

Klon AR27, 15/25 meme tümörü (12/22 duktal karsinom, 2/2 fibroadenom ve 1/1 lobüler karsinom dahil), 2/2 prostatik adenokarsinom, 1/4 hepatoselüler karsinom, 1/3 yumurtalık tümörü, 1/2 böbrek berrak hücreli karsinomu, 1/2 tükürük bezi tümörü, 1/2 uterus adenokarsinomu ve 1/1 prostat hiperplazisini boyamıştır. Bağırsak tümörleri (0/9), tiroid tümörleri (0/5), metastatik tümörler (0/5), beyin tümörleri (0/4), akciğer tümörleri (0/4), lenfomalara (0/3), özofagus tümörleri (0/3), mide tümörleri (0/3), böbreküstü bezi tümörleri (0/2), mesane tümörleri (0/2), kemik tümörleri (0/2), baş ve boyun tümörleri (0/2), seminomlar (0/2), servikal tümörler (0/2), bir dil tümörü (0/1), bir pankreas tümörü (0/1), bir cilt tümörü (0/1) ve bir melanom (0/1) dahil değerlendirilen çeşitli ek anormal dokularda boyanma saptanmamıştır. (Değerlendirilen toplam anormal olgu sayısı = 93).

**AR-318 (AR27), immünojenik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye yardımcı olarak normal ve neoplastik dokularda Androjen Reseptörü (AR) proteininin saptanması için önerilir.**

## Genel Sınırlamalar

İmmünohistokimya uygun reagent'ların seçilmesinde; dokunun seçilmesi, fikse edilmesi ve işlenmesinde; IHC laminin hazırlanmasında ve boyama sonuçlarının yorumlanmasında uzmanlık eğitimi gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir. Doku boyama, boyamadan önce dokunun ele alınması ve işlenmesi bağlıdır. Diğer dokularla veya akışkanlarla hatalı fikse etme, dondurma, eritme, yıkama, kurutma, ısıtma, seksiyonlama veya kontaminasyon artefakt, antikör trapping veya yanlış negatif sonuçlar oluşturabilir. Doku içerisinde fikse etme ve gömme yöntemleri veya inherent aksaklıklar nedeniyle tutarsız sonuçlar ortaya çıkabilir.<sup>4</sup>

Aşırı veya incomplekt karşıt boya, sonuçların doğru yorumlanmasına engel olabilir.

Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd antikörleri, belirtildiği gibi spesifik fikse etme işlemleri gerektiren dondurulmuş veya parafine gömülmüş seksiyonlarda kullanılmak içindir. Özellikle neoplazmalarda beklenmedik antijen ekspresyonu ortaya çıkabilir. Boyanan doku seksiyonunun klinik yorumu, morfolojik analiz ve uygun kontrollerin değerlendirilmesini içerir.

## Kaynakça - Genel

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Önceki Baskıya Göre Değişiklikler

Geçerli Değildir.

## Yayın tarihi

02 Mayıs 2019

# Моноклонално анти тяло Novocastra™ от мишка в течно състояние Androgen Receptor

## Код на продукта: NCL-L-AR-318

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

NCL-L-AR-318 е предназначен за качествено определяне със светлинна микроскопия на протеина на андрогенния рецептор в парафинови срези. Клиничната интерпретация на което и да е оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

### Принцип на процедурата

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

### Клон

AR27

### Имуноген

Прокариотен рекомбинантен протеин от 321 аминокиселини, представляващ N-терминалния край на човешкия андрогенен рецептор.

### Специфичност

Човешки андрогенен рецептор.

### Състав на реагента

NCL-L-AR-318 е супернатантна течност от тъканна култура, съдържаща натриев азид като консервант.

### Имуноглобулинов клас

IgG1

### Обща концентрация на протеин

Total Protein

Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата обща концентрация на протеин.

### Концентрация на анти теля

По-висока или равна на 45 mg/I. Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата концентрация на имуноглобулин.

### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

**Топлинно индуцирано възстановяване на епитопа (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Моля, спазвайте инструкциите за употреба, приложени към опаковката на Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

**Визуализация:** Моля, спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novolink™ Polymer Detection Systems. За допълнителна информация за продукта или помощ, свържете се с Вашия локален дистрибутор или местния офис на Leica Biosystems, или, алтернативно, посетете уебсайта на Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Работните характеристики на това анти тяло трябва да бъдат валидирани при употреба с други мануални системи за оцветяване или автоматизирани платформи.

### Съхранение и стабилност

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

### Подготовка на пробите

Препоръчителният фиксатор е неутрален буфериран формалин 10% за тъканни срези, включени в парафин.

### Предупреждения и предпазни мерки

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

Този реагент съдържа натриев азид. Лист с данни за безопасност на материала може да се получи при поискване или е на разположение от [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Направете справка във федералните, държавните или местните наредби относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.

Пробите, преди и след фиксиране, и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират като възможни преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки. <sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и проби. В случай че реагенти или проби влезнат в контакт с чувствителни зони, направете промивка с изобилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, иначе може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.

Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да причинят грешни резултати. Всякакви такива промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

### Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да причинят значителна вариабилност в резултатите, налагаща редовно извършване на вътрешни контроли в допълнение към следните процедури.

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

### Положителна тъканна контрола

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

Една положителна тъканна контрола трябва да бъде включена за всяка комбинация от тест-условия при всяка серия проби за оцветяване.

Тъкан със слабо положително оцветяване е по-подходяща от тъкан със силно положително оцветяване за оптимален качествен контрол и за откриване на по-малки нива на деградация на реагента.<sup>2</sup>

Препоръчителната тъкан за положителна контрола е кожа.

Ако положителната тъканна контрола не показва положително оцветяване, резултатите от пробите, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

### Отрицателна тъканна контрола

Трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на таргетния антиген от първичното антитяло.

Препоръчителната тъкан за отрицателна контрола е малкият мозък.

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

Неспецифичното оцветяване, ако присъства, обикновено е дифузно на вид. Спорадично оцветяване на съединителна тъкан може да се наблюдава и в прекомерно фиксирани във формалин тъкани. Използвайте интактни клетки за интерпретация на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенерираните клетки често се оцветяват неспецифично.<sup>3</sup> Може да се видят фалшиво положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата. Те може да са причинени и от ендогенни ензими като псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром C) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване. За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имунна реактивност, ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или с ензимни комплекси (авидин-биотин, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола, резултатите от пробите на пациентите трябва да се считат за невалидни.

### Отрицателна контрола на реагента

Използвайте неспецифична отрицателна контрола на реагента, вместо първичното антитяло, със срез от всяка проба на пациента, за да се направи оценка на неспецифичното оцветяване и да се даде по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на мястото на антигена.

### Тъкан от пациента

Изследвайте проби на пациенти, оцветени последно с NCL-L-AR-318. Наситеността на положителното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на фона на неспецифично оцветяване на отрицателната контрола на реагента, ако има такава. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираният клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антитела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

### Очаквани резултати

#### Нормални тъкани

С клон AR27 е открит протеина на човешкия андрогенен рецептор (AR) в ядрото на епителни и мускулни клетки на простатната жлеза, сперматогенни и Лайдигови клетки на тестисите. Оцветяване е наблюдавано и в сквамозен епител и аднексични структури на кожата, сквамозен епител и гладък мускул на шийката на матката, дуктален епител на гърдата, стромални клетки на яйчника, стромални и жлезисти клетки на ендометриума, инвагиниран епител на сливица, преходен епител на пикочния мехур, проксимални извити тубули на бъбрек и епителни клетки на ларинкса. (Общ брой на оценените нормални случаи = 134).

#### Абнормни тъкани

С клон AR27 са оцветени 15/25 тумора на гърдата (включващи 12/22 дуктални карцинома, 2/2 фиброаденома и 1/1 лобуларен карцином), 2/2 простатни аденокарцинома, 1/4 хепатоцелуларни карцинома, 1/3 овариални тумора, 1/2 светлоклетъчни карцинома на бъбрека, 1/2 тумора на спонжената жлеза, 1/2 аденокарцинома на матката и 1/1 простатна хиперплазия. Не се открива оцветяване при още редица оценени абнормни тъкани, включващи чревни тумори (0/9), тироидни тумори (0/5), метастатични тумори (0/5), мозъчни тумори (0/4), белодробни тумори (0/4), лимфоми (0/3), езофагеални тумори (0/3), тумори на стомаха (0/3), тумори на надбъбречната жлеза (0/2), тумори на пикочния мехур (0/2), костни тумори (0/2), тумори на главата и врата (0/2), семиноми (0/2), цервикални тумори (0/2), един тумор на езика (0/1), един панкреатичен тумор (0/1), един кожен тумор (0/1) и един меланом (0/1). (Общ брой на оценените абнормни случаи = 93).

**AR-318 (AR27) се препоръчва за откриване на протеина на андрогения рецептор (AR) в нормални и неопластични тъкани, като допълнение към конвенционалната хистопатология, с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.**



## Общи ограничения

Имунохистохимията е многостепенен диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение в избор на подходящите реагенти; избор на тъкани, фиксиране и обработка; подготовка на ИХХ слайд; и интерпретация на резултатите от оцветяването.

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилното фиксиране, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, сръзване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини артефакти, блокиране на антителата или фалшиво отрицателни резултати. Противоречивите резултати може да са причинени от отклонения във фиксирането и методите на включване в парафина, или вродени аномалии в тъканта.<sup>4</sup>

Прекаленото или непълно контраоцветяване може да компрометира правилната интерпретация на резултатите.

Клиничната интерпретация на което и да е оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Антителата от Leica Biosystems Newcastle Ltd са за употреба, както е указано, върху замразени или включени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Може да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценката на подходящи контроли.

## Библиография - основна

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha$ 2 $\beta$ 1-integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DJ, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Изменения на предишно издание

Неприложимо

## Дата на издаване

02 Май 2019

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest

## Androgen Receptor

**Termékkód: NCL-L-AR-318**

### Tervezett felhasználás

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-AR-318 az androgén receptor fehérje fénymikroszkóppal végzett minőségi azonosítására szolgál paraffinmetszetekben. Minden megfestésnek vagy a megfestés bármely hiányának a klinikai értelmezését a megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai kórelőzménye, valamint az egyéb, képzett patológus által végzett diagnosztikai vizsgálatok kontextusában kell kiértékelni.

### Az eljárás alapelve

Az immunhisztokémiai (IHC) megfestési technikák – közbeiktatott mosási lépések mellett – az antigén ellen termelődő specifikus antitest (elsőleges antitest), az elsődleges antitest ellen termelődő másodlagos antitest és az egy kromogén szubsztráttal rendelkező enzimmolekulák egymás után következő alkalmazásán keresztül teszik lehetővé az antigének képi megjelenítését. A kromogén enzimaktiválása látható reakcióterméket eredményez az antigén helyén. Utána a minta kontrasztfesthető és fedőlemezzel látható el. Az eredményeket fénymikroszkóp segítségével lehet értelmezni; ezek az eredmények segítenek a patofiziológiai folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok lehet, hogy egy konkrét antigénhez kapcsolhatók, de lehet, hogy nem.

### Klón

AR27

### Immunogén

A humán androgén receptor N-terminusának megfelelő 321 aminosav prokaryota rekombináns fehérjéje.

### Specifitás

Humán androgén receptor.

### Reagens összetétele

Az NCL-L-AR-318 egy tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felüliszűz.

### Ig-osztály

IgG1

### Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A tétel specifikus összfehérje-koncentrációját illetően lásd a fiola címkéjét.

### Antitest-koncentráció

Legalább 45 mg/l. A tételspecifikus Ig-koncentrációt illetően lásd a fiola címkéjét.

### Javaslatok a felhasználással kapcsolatban

Immunhisztokémia paraffinmetszeteken.

**Hőindukált epitópfeltárás (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Kövesse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9 termék használati utasítását.

**Javasolt feloldás:** 1:25 30 percen át, 25 °C-on. Mindez csak útmutatóul szolgál, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkaadataikat.

**Megjelenítés:** Kövesse a Novolink™ Polymer Detection Systems rendszerekben történő használatra vonatkozó utasításokat. Ha további termékinformációra vagy támogatásra van szüksége, forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems webhelyét a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

Ennek az antitestnek a teljesítőképességét validálni kell, amikor más festési rendszerekkel vagy automatizált platformokkal használják.

### Tárolás és stabilitás

2–8 °C-os hőmérsékleten tárolandó. Tilos fagyasztani. Felhasználás után azonnal tegye vissza olyan helyre, ahol a hőmérséklet 2–8 °C. A fiola címkéjén feltüntetett lejárati dátumot követően felhasználása tilos. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználóknak ellenőriznie kell.

### Minta előkészítése

A javasolt fixálóanyag a 10%-os, semleges pufferolású formalin a paraffinba ágyazott szövetmetszeteknél.

### Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejtkultúra felüliszűzéből készült. Mivel biológiai termék, kezelések egyszerű körültekintéssel kell eljárni. Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági lap igényelhető, vagy a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) webhelyen rendelkezésre áll.

Minden potenciálisan toxikus összetevőnek az ártalmatlanításával kapcsolatban tanulmányozza a szövetségi, állami vagy helyi rendelkezéseket.

A mintákat fixálás előtt és után, valamint az azoknak kitétt minden anyagot úgy kell kezelni, mintha fertőzőképes volna, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani.<sup>1</sup> Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, és kerülendő a bőr, valamint a nyálkahártyák érintkezése a reagensekkel és mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le. Forduljon orvoshoz. Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyezettségét, különben megnövekedhet a nem specifikus megfestés.

A megadottaktól eltérő inkubációs idők, illetve hőmérsékletek hibás eredményekre vezethetnek. Minden ilyen változást a felhasználónak kell validálnia.

## **Minőség-ellenőrzés**

A felhasználó laboratóriumában a szövetfeldolgozás és a műszaki eljárások terén jelentkező különbségek jelentős eltérést idézhetnek elő az eredmények területén, ami – a következő eljárásokon túlmenően – a házon belüli ellenőrzések rendszeres végrehajtását teszi szükségessé.

A kontrollok legyenek friss boncolási/biopsziás/sebészeti minták, amelyeket – amint lehet – ugyanúgy formalinnal fixáltak, dolgoztak fel, illetve ágyaztak paraffinviaszba, mint a betegmintá(ka).

## **Pozitív szövetkontroll**

Ezt a megfelelően preparált szövetek és a megfelelő megfestési technikák jelzésére használják.

Mindegyik vizsgálati feltételrendszer esetében egy pozitív szövetkontrollt kell alkalmazni minden megfestési sorozat során.

A gyengén pozitív megfestésű szövet alkalmasabb egyrészt az optimális minőség-ellenőrzés, másrészt az alacsonyabb szinten történő reagensbomlás észlelése szempontjából, mint az erősebben pozitív megfestésű szövet.<sup>2</sup>

A javasolt pozitív kontrollszövet a bór.

Ha a pozitív szövetkontroll nem mutat pozitív megfestést, a vizsgálati minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## **Negatív szövetkontroll**

Ezt a pozitív szövetkontroll után kell megvizsgálni, azért, hogy a célantigén az elsődleges antitest segítségével történő címkézésének a specificitását ellenőrizni lehessen.

A javasolt negatív kontrollszövet a kisagy.

Illetve, a legtöbb szövetmetszetben jelen lévő különböző sejttípusok változatossága gyakran kínál negatív kontrollhelyeket, de ezt a felhasználónak kell ellenőriznie.

A nem specifikus megfestés, ha van ilyen, rendszerint diffúz megjelenésű. Kötőszövet szöványos megfestése is megfigyelhető a formalinnal túlzottan fixált szövetekből származó metszeteknél. A megfestési eredmények értelmezésére értetlen sejteket használjon. Az elhalt vagy degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> Hamis pozitív eredmények jelentkezhetnek a fehérvérsejtek vagy a szubsztrát reakciótermékeinek a nem immunológiai kötődése miatt. Okozhatják ezt olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (eritrociták), endogén peroxidáz (citokrom C), illetve endogén biotin (pl. máj, mell, agy, vese), az alkalmazott immunmegfestés típusától függően. Az endogén enzim aktivitásának vagy a specifikus immunreaktivitásból származó enzimek nem specifikus kötődésének a megkülönböztelésére további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát kromogénnel vagy enzimkomplexekkel (avidin-biotin, sztreptavidin, címkézt polimer), illetve szubsztrát kromogénnel. Ha a negatív szövetkontroll specifikus megfestést mutat, a betegmintáknál jelentkező eredményeket érvénytelennek kell tekinteni.

## **Negatív reagenskontroll**

Az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt alkalmazzon mindegyik betegminta metszeténél, hogy a nem specifikus megfestést kiértékelhesse, és hogy lehetővé váljon a specifikus megfestés jobb értelmezése az antigén helyén.

## **Betegszövet**

Az NCL-L-AR-318-cal festett betegmintákat utolsóként vizsgálja meg. A pozitív megfestésintenzitást a negatív reagenskontroll bármely nem specifikus háttérmegfestésének a kontextusában kell kiértékelni. Ugyanúgy, mint bármely immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtekben/szövetben. Ha szükséges, a hamis negatív reakciók azonosítására használjon antitestpanel.

## **Várható eredmények**

### **Normális szövetek**

Az AR27 klón észlelte a humán androgén receptor (AR) fehérjét a prosztata epithelium- és izomszéljéi, a spermatoioniumok és a herék Leydig-sejtjeinek magjában. Megfestést figyeltek ezenkívül meg a bőr pikkelyes epitheliumában és adnexális struktúráiban, a méhnyak pikkelyes epitheliumában és simaizmában, a mell tejcsatornáinak epitheliumában, a petefészek stromalis sejtjeiben, az endometrium stromalis és mirigysejtjeiben, a mandula betokosodott epitheliumában, a hólyag átmeneti epitheliumában, a vese proximális kanyarulatos csatornáiban és a gége epithelialis sejtjeiben. (Az értékelt normális esetek összesített száma = 134.)

### **Abnormális szövetek**

Az AR27 klón festési eredményei: 15/25 mell tumor (közte 12/22 ductalis carcinoma, 2/2 fibroadenoma és 1/1 lobularis carcinoma), 2/2 prosztata-adenocarcinoma, 1/4 hepatocellularis carcinoma, 1/3 petefészek tumor, 1/2 világos sejtves carcinoma, 1/2 nyálmirigy tumor, 1/2 méh-adenocarcinoma és 1/1 prosztata-hyperplasia. Semmilyen megfestést nem észleltek sokféle további értékelt abnormális szövetben, beleértve a bél tumor (0/9), pajzsmirigy tumor (0/5), metasztázisos tumor (0/5), agy tumor (0/4), tüdő tumor (0/4), limfómát (0/3), nyelöcső tumor (0/3), gyomor tumor (0/3), mellékvese tumor (0/2), hólyag tumor (0/2), csont tumor (0/2), a fej és nyak tumorjait (0/2), seminómát (0/2), méhnyak tumor (0/2), nyelvtumor (0/1), hasnyálmirigy tumor (0/1), bőrtumor (0/1) és melanómát (0/1). (Az értékelt abnormális esetek összesített száma = 93.)

**Az AR-318 (AR27) az androgén receptor (AR) fehérje detektálására ajánlott normális és neoplasias szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos hisztopatológia kiegészítéseként.**

## **Általános korlátozások**

Az immunhisztokémia egy többlépcsős diagnosztikai eljárás, amely a következőkből áll: szakképzés a megfelelő reagens kiválasztása terén; szövetválasztás, -fixálás és feldolgozás; az IHC-tárgylemez előkészítése; és a megfestési eredmények értelmezése.

A szövetmegfestés függ a szövet kezelésétől és feldolgozásától a megfestés előtt. A nem megfelelő fixálás, fagyaszítás, olvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszelkészítés vagy a más szövetekkel, illetve folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve hamis negatív eredményeket produkálhat. A következtelen eredmények a fixálási vagy beágyazási módszerek tekintetében jelentkező eltéréseknek, illetve a szöveten belül jelentkező eredendő rendelkezési hiányoknak tudhatók be.<sup>4</sup>

A túlzott vagy hiányos kontrasztmegfestés az eredmények megfelelő értelmezését ronthatja.

Minden megfestésnek vagy a megfestés bármely hiányának a klinikai értelmezését a megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai kórelőzménye, valamint az egyéb, képzett patológus által végzett diagnosztikai vizsgálatok kontextusában kell kiértékelni.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd-től származó antitestek, a jelzettek szerint – specifikus fixálási követelmények mellett – a fagyasztott vagy paraffinba ágyazott metszeteken történő felhasználásra szolgálnak. Váratlan antigén-kifejeződés is előfordulhat, különösen neoplazmák esetében. Bármely festett szövetszövet klinikai értelmezésének ki kell terjednie a morfológiai elemzésre és a megfelelő kontrollok értékelésére is.

### **Bibliográfia - általános**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DJ, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

### **Előző kiadás módosításai**

Nem alkalmazható.

### **Kiadás időpontja**

02 május 2019

# Anticorp monoclonal lichid de șoarece Novocastra™

## Androgen Receptor

### Cod produs: NCL-L-AR-318

#### Domeniu de utilizare

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-AR-318 este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei receptorului androgen în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice utilizând proceduri de control adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de un patolog calificat.

#### Principiul de procedură

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

#### Clonă

AR27

#### Imunogen

Proteina procariotă recombinantă a 321 aminoacizi reprezentând terminalul N al receptorului androgen uman.

#### Specificitate

Receptor androgen uman.

#### Compoziția reactivului

NCL-L-AR-318 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

#### Clasa Ig

IgG1

#### Concentrație proteină totală Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

#### Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 45 mg/l. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

#### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

**Recuperarea epitopului indusă de căldură (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Urmați instrucțiunile de utilizare pentru Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Depozitare și stabilitate

Depozitați la 2 – 8 °C. Nu congelați. Returnați la 2 – 8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data de expirare indicată pe eticheta flaconului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator.

#### Pregătirea probei

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

#### Avertismente și precauții

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

Acest reactiv conține azidă de sodiu. Fișa cu informații de siguranță despre material este disponibilă la cerere sau poate fi obținută de pe site-ul [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

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

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

## Controlul calității

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

## Țesutul de control pozitiv

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

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

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

Țesutul de control pozitiv recomandat este pielea.

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

## Țesutul de control negativ

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

Țesutul de control negativ recomandat este creierul.

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

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

## Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ nespecific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare probă a pacientului pentru a evalua colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorației specifice la locul aplicării antigenului.

## Țesutul pacientului

Examinați probele pacientului colorate cu NCL-L-AR-318 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fond nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un set de anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Clona AR27 a detectat proteina receptorului androgen (AR) uman în nucleul epitelului și al mușchiului prostatei, celulelor germinale producătoare de spermă și al celulelor Leydig din testicule. De asemenea, s-a observat colorația în epitelul scuamos și structurile anexe ale pielii, epitelul scuamos și mușchiul neted cervical, epitelul ductal al sânelui, celulele stromale ale ovarului, celulele stromale și glandulare ale endometrului, epitelul pliat al amigdalelor, epitelul tranzitoriu al vezicii urinare, tuburile renale înfășurate proximale și celulele epiteliale ale laringelui. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 134).

### Țesuturi anormale

Clona AR27 a colorat 15/25 tumori de sân (inclusiv 12/22 carcinoame ductale, 2/2 fibroadenoame și 1/1 carcinoame lobulare), 2/2 adenocarcinoame ale prostatei, 1/4 carcinoame hepatocelulare, 1/3 tumori ovariene, 1/2 carcinoame renale cu celule clare, 1/2 tumori ale glandei salivare, 1/2 adenocarcinoame ale uterului și 1/1 hiperplazie prostatică. Nu s-a detectat nici o colorație într-o varietate de țesuturi anormale suplimentare evaluate, inclusiv tumori intestinale (0/9), tumori ale glandei tiroide (0/5), tumori metastatice (0/5), tumori cerebrale (0/4), tumori pulmonare (0/4), limfoame (0/3), tumori ale esofagului (0/3), tumori stomacale (0/3), tumori ale glandelor suprarenale (0/2), tumori ale vezicii urinare (0/2), tumori osoase (0/2), tumori ale capului și gâtului (0/2), seminoame (0/2), tumori cervicale (0/2), o tumoră a limbii (0/1), o tumoră a pancreasului (0/1), o tumoră a pielii (0/1) și un melanom (0/1). (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 93).

**AR-318 (AR27) este recomandat pentru detectarea proteinei receptorului androgen (AR) în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochimici non-immunologici.**

## Limitări generale

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

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

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice utilizând proceduri de control adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de un patolog calificat.

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

### **Bibliografie - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

### **Amendamente la ediția anterioară**

Nu este cazul.

### **Data publicării**

02 mai 2019

# Жидкая форма мышинных моноклональных антител Novocastra™ Androgen Receptor

## Код продукта: NCL-L-AR-318

### Назначение

Для диагностики *in vitro*.

NCL-L-AR-318 предназначен для качественного определения белка рецептора андрогенов в парафиновых срезах с помощью световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

### Принцип процедуры

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

### Клон

AR27

### Иммуноген

Прокариотный рекомбинантный белок из 321 аминокислоты, представляющий N-конец андрогенового рецептора человека.

### Специфичность

Андрогеновый рецептор человека.

### Состав реагента

NCL-L-AR-318 — супернатант жидкой тканевой культуры, содержащий азид натрия в качестве консерванта.

### Класс иммуноглобулинов

IgG1

### Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка для каждой партии указана на этикетке флакона.

### Концентрация антител

Не менее 45 мг/л. Концентрация Ig для каждой партии указана на этикетке флакона.

### Рекомендации по применению

Иммуногистохимия на парафиновых срезах.

**Высокотемпературная демаскировка антигена (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к раствору Novocastra Epitope Retrieval Solution с pH 9.

**Рекомендуемое разведение:** 1:25 в течение 30 минут при 25 °С. Эти указания следует считать ориентировочными, и пользователи должны сами определить свои оптимальные рабочие разведения.

**Визуализация:** Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к реагенту Novolink™ Polymer Detection Systems. За дополнительной информацией об этом продукте и поддержке обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems, либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)  
В случае применения этого антитела с другими ручными системами окрашивания или автоматизированными платформами следует выполнять валидацию его работоспособности.

### Хранение и стабильность

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

### Подготовка образцов

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

### Предупреждения и меры предосторожности

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

Этот реагент содержит азид натрия. Паспорт безопасности материала (Material Safety Data Sheet) можно получить по запросу или загрузить с [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

В отношении утилизации любых потенциально токсичных компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.



Образцы (до и после фиксации) и все контактирующие с ними материалы следует считать способными к передаче инфекции, и при их утилизации следует соблюдать надлежащие меры предосторожности.<sup>1</sup> Никогда не набирайте реагенты в пипетку ртом! Избегайте контакта реагентов и образцов с кожей и слизистыми оболочками! В случае контакта реагентов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью. Сводите к минимуму микробное загрязнение реагентов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

### **Контроль качества**

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

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

### **Положительный тканевой контроль**

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

Для каждого набора условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один положительный тканевой контроль.

Для оптимального контроля качества и обнаружения незначительного снижения качества реагента более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.<sup>2</sup>

В качестве ткани для положительного контроля рекомендуется кожа.

При отсутствии положительного окрашивания положительного тканевого контроля результаты, полученные с исследуемыми образцами, считаются недействительными.

### **Отрицательный тканевой контроль**

Этот тест необходимо выполнять после положительного тканевого контроля для проверки специфичности маркировки целевого антигена первичным антителом.

В качестве ткани для отрицательного контроля рекомендуется мозжечок.

В качестве альтернативы в большинстве срезов тканей часто имеется множество различных типов клеток как мест отрицательного контроля, однако это должно быть проверено пользователем.

Неспецифическое окрашивание, если оно присутствует, обычно выглядит диффузным. В срезах тканей, избыточно фиксированных формалином, можно также иногда увидеть окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации результатов окрашивания используйте интактные клетки. Некротизированные или дегенерировавшие клетки часто окрашиваются неспецифически.<sup>3</sup>

Неиммунное связывание белков или продуктов реакции с субстратом может привести к ложноположительным результатам.

Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах), эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, эндогенном мозге или почке),

в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания.<sup>4</sup> Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифическое связывание ферментов от специфической иммунореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно субстрат-хромогеном или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и субстрат-хромогеном, соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном тканевом контроле результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

### **Отрицательный контроль реагента**

Используйте неспецифический отрицательный контроль реагента вместо первичного антитела на срезе каждого полученного у пациента образца с целью оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания в месте расположения антигена.

### **Ткань, полученная у пациента**

Полученные у пациентов образцы, окрашенные с помощью NCL-L-AR-318, исследуйте в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания отрицательного контроля реагента. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или ткани. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

### **Ожидаемые результаты**

#### Нормальные ткани

Клон AR27 выявлял белок андрогенового рецептора человека (AR) в ядре клетки эпителия и мышцы простаты, сперматогониев и клеток Лейдига в семенниках. Окрашивание наблюдалось также в плоском эпителии и придаточных структурах кожи, плоском эпителии и гладкой мышце шейки матки, протокомм эпителии молочной железы, стромальных клетках яичника, стромальных и железистых клетках эндометрия, инвагинированном эпителии миндалин, переходном эпителии мочевого пузыря, проксимальных извитых канальцах почки и эпителиальных клетках гортани. (Общее количество оцененных нормальных случаев = 134.)

#### Патологические измененные ткани

Клон AR27 окрасил 15 из 25 опухолей молочной железы (в том числе 12 из 22 протоковых карцином, 2 из 2 фиброаденом и 1 из 1 лобулярной карциномы), 2 из 2 аденокарцином простаты, 1 из 4 гепатоцеллюлярных карцином, 1 из 3 опухолей яичника, 1 из 2 светлоклеточных карцином почки, 1 из 2 опухолей сплюснутой железы, 1 из 2 аденокарцином матки и 1 из 1 гиперплазии простаты. Окрашивания не было обнаружено в ряде дополнительных патологических тканей, подвергнутых оценке, включая опухоли кишечника (0 из 9), опухоли щитовидной железы (0 из 5), метастатические опухоли (0 из 5), опухоли головного мозга (0 из 4), опухоли лёгкого (0 из 4), лимфомы (0 из 3), опухоли пищевода (0 из 3), опухоли желудка (0 из 3), опухоли надпочечника (0 из 2), опухоли мочевого пузыря (0 из 2), костные опухоли (0 из 2), опухоли головы и шеи (0 из 2), семиномы (0 из 2), опухоли шейки матки (0 из 2), опухоль языка (0 из 1), опухоль поджелудочной железы (0 из 1), опухоль кожи (0 из 1) и меланому (0 из 1). (Общее количество оцененных патологических случаев = 93.)

**AR-318 (AR27) рекомендуется для обнаружения белка андрогенового рецептора (AR) в нормальных и опухолевых тканях в качестве дополнения к традиционным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.**

## Общие ограничения

Иммуногистохимическое исследование является многостадийным диагностическим процессом, требующим специальных навыков в выборе надлежащих реагентов; выборе, фиксации и обработке тканей; приготовлении ИГХ-микрореферата; интерпретации результатов окрашивания.

Окрашивание ткани зависит от обращения с тканью и её обработки перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями или жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам. Непостоянство результатов может быть связано с различиями методов фиксации и заливки или с присущей тканям неоднородностью.<sup>4</sup>

Избыточное или неполное контрастное окрашивание может привести к неправильной интерпретации результатов.

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

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

## Литература — общая

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F, Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. *Cancer Research* 61:423-427.

## Поправки к предыдущему выпуску

Не применимо.

## Дата выпуска

02 Май 2019

# Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™

## Androgen Receptor

### Kod produktu: NCL-L-AR-318

#### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Produkt NCL-L-AR-318 jest przeznaczony do identyfikacji jakościowej w mikroskopie optycznym białka receptora androgenowego w skrawkach zatopionych w parafinie. Klinczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii klinicznej pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

#### Procedura badania

Metody wybarwienia immunohistochemicznego (IHC) umożliwiają wizualizację antygenów za pomocą kolejnych zastosowań swoistego przeciwciała przeciwko antygenowi (pierwsze przeciwciało), drugiego przeciwciała do pierwszego przeciwciała i kompleksu enzymu z substratem chromogennym z etapami przemywania. Aktywacja enzymatyczna dodanego chromogenu powoduje utworzenie widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Następnie można wykonać barwienie negatywne próbki badanej i zakryć ją szkiełkiem przykrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu optycznego i są pomocne w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek lub mogą nie mieć związku z określonym antygenem.

#### Sklonuj

AR27

#### Immunogen

Prokariotyczne białko rekombinowane 321 aminokwasów, odpowiadające N-końcowemu ludzkiemu receptorowi androgenowemu.

#### Swoistość

Ludzki receptor androgenowy.

#### Skład odczynnika

NCL-L-AR-318 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zawierającym azydek sodu jako substancję konserwującą.

#### Klasa Ig

IgG1

#### Całkowite stężenia białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 45 mg/l. Stężenie Ig w danej partii podano na etykiecie fiołki.

#### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne na skrawkach zatopionych w parafinie.

**Stosowanie podwyższonej temperatury do odzyskiwania epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania załączoną do roztworu Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

**Sugerowane rozcieńczenie:** 1:25 przez 30 minut w temperaturze 25 °C. Są to jedynie wskazówki i użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

**Wizualizacja:** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania podaną w produktach Novolink™ Polymer Detection Systems.

W sprawie dodatkowych informacji o produkcie lub w celu uzyskania pomocy należy kontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems lub odwiedzić stronę firmy Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

#### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2 °C–8 °C. Nie zamrażać. Po użyciu natychmiast przenieść do temperatury 2 °C–8 °C. Nie używać po upływie daty ważności wskazanej na etykiecie. Użytkownik musi sprawdzić warunki przechowywania inne niż wskazane powyżej.

#### Przygotowanie preparatów

Zalecanym utrwalaczem jest 10% obojętna zbuforowana formalina przeznaczona dla skrawków tkankowych zatopionych w parafinie.

#### Ostrzeżenia i środki ostrożności

Ten odczynnik został przygotowany dla supernatantu hodowli tkankowej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas postępowania z nim należy zachować odpowiednią ostrożność.

Ten odczynnik zawiera azydek sodu. Karta charakterystyki jest udostępniana na żądanie lub można ją pobrać ze strony [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

W sprawie utylizacji jakichkolwiek potencjalnie toksycznych składników należy zapoznać się z krajowymi lub miejscowymi przepisami.

Próbki, przed i po utrwaleniu oraz wszystkie materiały mające z nimi kontakt należy traktować jako potencjalnie zakaźne i usuwać przy zachowaniu odpowiednich środków ostrożności.<sup>1</sup> Nigdy nie pipetować odczynników ustami oraz unikać kontaktu odczynników i próbek badanych ze skórą i błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek z wrażliwymi miejscami należy umyć miejsca kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.

Należy ograniczyć skażenie odczynników drobnoustrojami, ponieważ w przeciwnym razie może dojść do nasilenia barwienia nieswoistego. Zastosowanie czasów inkubacji i temperatury innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Każda taka zmiana musi zostać zwalidowana przez użytkownika.

### Kontrola jakości

Różnice w obróbce tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą spowodować istotną zmienność wyników, wymagającą oprócz następujących procedur prowadzenia regularnych kontroli wewnętrznych. Kontrole powinny być próbkami ze świeżej autopsji/biopsji/operacji chirurgicznej utrwalonymi, przygotowanymi i zatopionymi w parafinie najszybciej, jak to możliwe w taki sam sposób, jak badana próbka(i) pacjenta.

### Dodatnia kontrola tkankowa

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

Jedna dodatnia kontrola tkankowa powinna być uwzględniona w każdym zestawie warunków testu w każdej serii barwienia.

Dla optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej odpowiednia jest tkanka o słabym dodatnim wybarwieniu niż tkanka o silnym dodatnim wybarwieniu.<sup>2</sup>

Zalecaną dodatnią kontrolą tkankową jest skóra.

Jeśli tkanka kontroli dodatniej nie wykaże odpowiedniego dodatniego wybarwienia, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pacjenta należy uważać za nieważne.

### Ujemna kontrola tkankowa

Należy ją badać po tkance kontroli dodatniej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygeny przez pierwsze przeciwciała.

Zalecaną ujemną kontrolą tkankową jest mózdzek.

Alternatywnie różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkankowych oferuje miejsca kontroli ujemnej, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Wybarwienie nieswoiste, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utrwalonego w formalinie może być widoczne również sporadyczne wybarwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieuszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują nieswoiste barwienie.<sup>3</sup> Wyniki fałszywie dodatnie mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratów. Mogą być również spowodowane przez endogenne enzymy, takie jak pseudoperoksydaza (erytrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna biotylna (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta mogą być barwione wyłącznie substratem chromogenem lub kompleksem enzymatycznym (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenem. Jeżeli pojawi się swoiste wybarwienie tkanki kontroli ujemnej, wyniki uzyskane dla próbek pacjenta należy uznać za nieważne.

### Ujemna kontrola odczynnika

Zastosować nieswoisty odczynnik kontroli ujemnej w miejsce pierwszego przeciwciała wraz ze skrawkiem każdej próbki pacjenta dla oceny nieswoistego barwienia oraz uwzględnić lepszą interpretację swoistego barwienia w miejscu antygeny.

### Tkanka pacjenta

Próbki pacjenta wybarwione testem NCL-L-AR-318 należy badać jako ostatnie. Intensywność wybarwienia dodatniego należy oceniać w kontekście ewentualnego nieswoistego wybarwienia tła odczynnika kontroli ujemnej. Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygeny nie wykryto, co nie znaczy, że antygen nie jest obecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności wykorzystaj panel przeciwciał do identyfikacji fałszywie ujemnych reakcji.

### Oczekiwane wyniki

#### Tkanki prawidłowe

Klon AR27 wykrywał białko ludzkiego receptora androgenowego (AR) w jądrach nabłonka i mięśniach prostaty, w spermatogonii i komórkach Leydiga jąder. Stwierdzono również wybarwienie w nabłonku płaskim i strukturach przydatkowych skóry, nabłonku płaskim i mięśniach gładkich szyjki macicy, nabłonku przewodów piersi, komórkach zrębu jajników, komórkach zrębu i gruczolów białym śluzowej macicy, wglóbnionym nabłonku migdałków, nabłonku przejściowym pęcherza moczowego, bliższych kanalikach nerek i komórkach nabłonkowych krtani. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 134).

#### Tkanki patologiczne

Klon AR27 wybarwił 15/25 przypadków raka piersi (w tym 12/22 raków przewodowych, 2/2 gruczolakowłukniaków i 1/1 raka płatkowego), 2/2 gruczolakoraków gruczołu krokowego, 1/4 przypadki raka wątrobowokomórkowego, 1/3 przypadki raka jajników, 1/2 raka jasnokomórkowego nerek, 1/2 przypadki raka gruczołu ślinowego, 1/2 przypadki gruczolakoraka macicy i 1/1 przerost gruczołu krokowego. Nie obserwowano barwienia w różnych dodatkowych nieprawidłowych tkankach, w tym w przypadku raka jelit (0/9), raka tarczycy (0/5), raka z przerzutami (0/5), raka mózgu (0/4), raka płuc (0/4), chłoniaków (0/3), raka przelyku (0/3), raka żołądka (0/3), raka nadnerczy (0/2), raka pęcherza moczowego (0/2), raka kości (0/2), raka głowy i szyi (0/2), raka nasieniaków (0/2), raka szyjki macicy (0/2), raka języka (0/1), raka trzustki (0/1), raka skóry (0/1) i czerniaka (0/1). (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 93).

**Test AR-318 (AR27) jest zalecany do wykrywania białka receptora androgenowego (AR) w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histochemicznym.**

## Ograniczenia ogólne

Badanie immunohistochemiczne polega na wieloetapowym procesie diagnostycznym, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników, doborze tkanek, utrwalaniu oraz przygotowaniu; przygotowaniu szkiełek immunohistochemicznych oraz interpretacji wyników wybarwienia.

Wybarwienie tkanek zależy od postępowania i przygotowania tkanki przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalenie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, dzielenie na skrawki lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub fałszywie ujemne wyniki. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i zatapiania lub z powodów nieprawidłowości samej tkanki.<sup>4</sup>

Nadmierne lub niepełne barwienie ujemne może pogarszać interpretację wyników.

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocena powinna przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii klinicznej pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do stosowania zgodnie z przeznaczeniem na skrawkach zamrożonych lub na skrawkach zatopionych w parafinie i po spełnieniu określonych wymagań utrwalania. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygenu, szczególnie w przypadku raków. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę odpowiednich kontroli.

## Piśmiennictwo - ogólne

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Poprawki do poprzedniego wydania

Nie dotyczy.

## Data publikacji

02 maja 2019

# Tekočinsko monoklonsko protitelo Novocastra™ iz miši

## Androgen Receptor

### Koda izdelka: NCL-L-AR-318

#### Predvidena uporaba

Za *diagnostično uporabo in vitro*.

Izdelek NCL-L-AR-318 je namenjen za kvalitativno identifikacijo proteina androgenskega receptorja v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

#### Osnove postopka

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

#### Klon

AR27

#### Imunogen

Prokariotični rekombinantni protein iz 321 aminokislin, ki ustreza N-terminalnemu delu androgenskega receptorja.

#### Specifičnost

Humani androgenski receptor.

#### Sestava reagenta

NCL-L-AR-318 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje natrijev azid kot konzervans.

#### Klasa imunoglobulina

IgG1

#### Skupna koncentracija proteina

Total Protein

Glejte etiketo na foli za skupno koncentracijo proteina določene serije.

#### Koncentracija protitelesa

Višja ali enaka 45 ml/l. Glejte etiketo na foli za koncentracijo imunoglobulina določene serije.

#### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

**Toplotno izzvano razkrivanje epitopov (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Sledite navodilom za uporabo raztopine za razkrivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

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

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

#### Shranjevanje in stabilnost

Hranite pri temperaturah 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi vrnite v okolje s temperaturo 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti. Uporabnik naj preveri pogoje shranjevanja, ki se razlikujejo od zgoraj navedenih.

#### Priprava vzorcev

Priporočena fiksna raztopina je 10-% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, pripravljene v parafinu.

#### Opozorila in previdnostni ukrepi

Vir priprave tega reagenta je supernatant celične kulture. Ker je to biološki izdelek, je treba z njim delati z ustrežno skrbnostjo. Ta reagent vsebuje natrijev azid. Če želite varnostni list, nam sporočite; najdete ga lahko tudi na spletnem mestu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Sledite federativnim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerikoli morebitno strupenih sestavin.

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

Pazite, da ne pride do mikrobnih okužb reagentov, drugače se lahko poveča nespecifično obarvanje.

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

## Kontrola kakovosti

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

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

## Positivni kontrolni vzorci tkiva

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

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

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

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo kožno tkivo.

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

## Negativni kontrolni vzorci tkiva

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

Za negativni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo malih možganov.

Drugače pa se kot negativne kontrolne vzorce često uporablja vrsta različnih celic, ki so prisotne v večini rezinah tkiv, vendar pa mora tako uporabo preveriti uporabnik.

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

## Negativni kontrolni reagent

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

## Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-AR-318. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa odsotnosti antigena v preizkušanih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite panel protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon AR27 je zaznal protein humanega androgenskega receptorja (AR) v celicah epitelijskega tkiva in mišičah prostate, spermatogoniji in Leydigovih celicah v modih. Obarvanje so opazili tudi v ploščatem epiteliju in adneksalnih strukturah kože, ploščatem epiteliju in gladkih mišičah materničnega vratu, duktalnem epiteliju dojke, stromalnih celicah jajčnikov, stromalnih in glandularnih celicah endometrija, invaginiranem epiteliju mandljev, prehodnem epiteliju mehurja, proksimalnih zvitihih tubulih ledvic in epitelijskih celicah glasilk. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 134).

### Anomalna tkiva

Klon AR27 je obarval 15/25 tumorjev na dojkah (vključno s 12/22 duktalnih karcinomov, 2/2 fibroadenomov in 1/1 lobularnim karcinomom), 2/2 adenokarcinomov prostate, 1/4 hepatocelularnih karcinomov, 1/3 tumorjev na jajčnikih, 1/2 svetloceličnih karcinomov ledvic, 1/2 tumorjev na slinavki, 1/2 adenokarcinomov maternice in 1/1 hiperplazije prostate. Obarvanja niso opazili v različnih dodatnih anomalnih tkivih, ki so jih ocenjevali, vključno s tumorji na črevesju (0/9), tumorji na ščitnici (0/5), metastatičnimi tumorji (0/5), tumorji na možganih (0/4), tumorji na pljučih (0/4), limfomami (0/3), tumorji na požiralniku (0/3), tumorji na želodcu (0/3), tumorjem na nadledvičnih žlezah (0/2), tumorjema na mehurju (0/2), tumorjema na kosteh (0/2), tumorjema na glavi in vratu (0/2), seminomama (0/2), tumorjema na materničnem vratu (0/2), tumorjem na jeziku (0/1), tumorjem na slinavki (0/1), tumorjem na koži (0/1) in melanomom (0/1). (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 93).

**Izdelek AR-318 (AR27) se priporoča za zaznavanje proteina androgenskega receptorja (AR) v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunoloških histokemijskih barvil.**

## Splošne omejitve

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

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegovo obdelavo pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zmrzovanje, odtajevanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzročijo nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali napačne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega.<sup>4</sup>

Prekomerno ali nepopolno nasprotno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno razlago rezultatov.

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

Protitelesa podjetja Leica Biosystems Newcastle Ltd so namenjena uporabi, kot je navedeno, na zamrznjenih ali parafinsko obdelanih rezinah z določenimi zahtevami za fiksiranje. Lahko pride do nepričakovane reakcije antigena, posebno pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.

### **Splošna literatura**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *Journal of Cell Science*. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Experimental Dermatology*. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. *Journal of Cell Science*. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. *Cancer Research* 61:423-427.

### **Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji**

Navedba smiselno ni potrebna.

### **Datum izdaje**

02 maj 2019



# Tekutá myši monoklonální protilátka Novocastra™

## Androgen Receptor

### Kód výrobku: NCL-L-AR-318

#### Určené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-AR-318 je určen ke kvalitativnímu stanovení proteinu androgenového receptoru světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

#### Princip metody

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

#### Klon

AR27

#### Imunogen

Prokaryotický rekombinantní protein 321 amino kyselin reprezentující N-terminus lidského androgenového receptoru.

#### Specifita

Lidský androgenový receptor.

#### Složení reagentie

NCL-L-AR-318 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

#### Třída Ig

IgG1

#### Koncentrace celkového proteinu

Total Protein

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

#### Koncentrace protilátek

45 mg/l nebo vyšší. Koncentrace Ig specifická pro šarži viz štítek na lahvičce.

#### Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

**Teplem indukované odmaskování epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Postupujte podle pokynů k použití k roztoku Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

**Vizualizace:** Postupujte podle návodu k použití k systémům Novolink™ Polymer Detection Systems. Další informace o produktu nebo podporu si vyžádejte od místního distributora nebo regionální kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo alternativně navštivte web společnosti Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

#### Uchovávání a stabilita

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte. Okamžitě po použití výrobek vraťte do teploty 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data použitelnosti uvedeného na štítku na lahvičce. Podmínky uchovávání jiné než výše uvedené musí uživatel ověřit.

#### Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro parafinové tkáňové řezy je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

#### Varování a bezpečnostní opatření

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

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

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

Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály jim vystavenými, je nutno zacházet, jako by mohly způsobit přenos infekce, a likvidovat je s náležitými bezpečnostními opatřeními.<sup>1</sup> Reagentie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagentií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagentie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.

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

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

## Kontrola jakosti

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

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

## Positivní tkáňová kontrola

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

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

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

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je kůže.

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

## Negativní tkáňová kontrola

Musí být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specificity označení cílového antigenu primární protilátkou.

Doporučená negativní tkáňová kontrola je mozeček.

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

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálinem může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.<sup>3</sup> Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakčního substrátu. Mohou být také způsobeny endogenními enzymy, jako je např. pseudoperoxidáza (erythrocyty), endogenní peroxidáza (cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarvíva. K odlišení aktivity endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáňové pacienta výlučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

## Negativní reagenční kontrola

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

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-AR-318. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí a negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon AR27 detekoval protein lidského androgenového receptoru (AR) v jádru epitelu a ve svalech prostaty, ve spermatogonii a v Leydigových buňkách varlat. Barvení bylo pozorováno také v dlaždicovém epitelu a v adnexálních strukturách kůže, v dlaždicovém epitelu a hladké svalovině děložního hrdla, v dukálních epitelu prsu, ve stromálních buňkách vaječníku, ve stromálních a žilových buňkách endometria, v invaginovaném epitelu mandle, v přechodném epitelu močového měchýře, v proximálních stočených ledvinových kanálcích a v epitelových buňkách hrtanu. (Celkový počet vyšetřených normálních tkání = 134.)

### Abnormální tkáň

Klon AR27 obarvil 15/25 nádorů prsu (včetně 12/22 dukálních karcinomů, 2/2 fibroadenomů a 1/1 lobulární karcinom), 2/2 adenokarcinomů prostaty, 1/4 hepatocelulárních karcinomů, 1/3 nádorů vaječníků, 1/2 ledvinových karcinomů z jasných buněk, 1/2 nádorů slinné žlázy, 1/2 adenokarcinomů dělohy a 1/1 prostatickou hyperplazii. Žádné barvení nebylo detekováno v celé řadě dalších hodnocených abnormálních tkání, včetně nádorů střev (0/9) nádorů štítné žlázy (0/5), metastatických nádorů (0/5), nádorů mozku (0/4), nádorů plic (0/4), lymfomů (0/3), nádorů jícnu (0/3), nádorů žaludku (0/3), nádorů nadledvinek (0/2), nádorů močového měchýře (0/2), nádorů kosti (0/2), nádorů hlavy a krku (0/2), seminomů (0/2), nádorů děložního hrdla (0/2), nádorů jazyka (0/1), nádoru pankreatu (0/1), nádoru kůže (0/1) a melanomu (0/1). (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 93.)

**AR-318 (AR27) se doporučuje k detekci proteinu androgenového receptoru (AR) v normálních a neoplastických tkáňích, jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.**

## Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je víceokrový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagenzií, výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě IHC sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení.

Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáňemi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití, nebo přirozených odchylek ve tkáni.<sup>4</sup>

Nadměrné nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

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

Protilátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají podle indikace u zmrazených nebo u parafinových řezů se specifickými požadavky na fixaci. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoli barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfologickou analýzu a zhodnocení příslušných kontrol.

## Literatura - všeobecná

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

## Opravy předchozího vydání

Nevztahuje se.

## Datum vydání

02 květen 2019

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

## Androgen Receptor

### Kód produktu: NCL-L-AR-318

#### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

NCL-L-AR-318 slúži na kvalitatívnu identifikáciu proteínu androgénového receptora v parafinových rezoch pomocou svetelnej mikroskopie. Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

#### Princíp postupu

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

#### Klon

AR27

#### Imunogén

Prokaryotický rekombinantný proteín s 321 aminokyselinami zodpovedajúci N-koncu ľudského androgénového receptora.

#### Špecificita

Ľudský androgénový receptor.

#### Zloženie činidla

NCL-L-AR-318 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

#### Trieda Ig

IgG1

#### Celková koncentrácia proteínov Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

Väčšia alebo rovná 45 mg/l. Koncentráciu Ig špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafinových rezov.

**Záchyť epitopov s tepelnou indukciou (HIER):** Postupujte podľa návodu na použitie systému Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

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

**Vizualizácia:** Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink™ Polymer Detection Systems. Ďalšie informácie o produkte alebo podporu vám poskytne váš miestny distribútor alebo lokálne zastúpenie spoločnosti Leica Biosystems. Takisto môžete navštíviť internetovú stránku spoločnosti Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

#### Uskladnenie a stabilita

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

#### Príprava vzorky

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

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

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

Toto činidlo obsahuje azid sodný. Materiálový bezpečnostný list je k dispozícii na požiadanie alebo na stránkach [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) Likvidácia prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.

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

Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.

Nedodržanie predpísaných inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

## Kontrola kvality

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

Kontroly by mali byť čerstvé pitevne/biopsické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formalínom a spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

## Pozitívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia.

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

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

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je koža.

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

## Negatívna kontrola tkanivom

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

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu je mozoček.

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

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

## Negatívna kontrola čínidlom

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

## Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené prípravkom NCL-L-AR-318 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly čínidlom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testov znamená negatívny výsledok, že antigén nebol detegovaný. Nepotvrďuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon AR27 detegoval proteín ľudského androgénového receptora (AR) v jadre epitelu a svalstva prostaty, spermatozónií a Leydigových buniek semenníkov. Zafarbenie sa pozorovalo aj v skvamóznom epitelu a adnexálnych štruktúrach kože, skvamóznom epitelu a hladkom svalstve krčka maternice, dukálnom epitelu prsníka, stromálnych bunkách vaječníkov, stromálnych a glandulárnych bunkách endometria, invaginovanom epitelu tonzily, prechodnom epitelu močového mechúra, proximálnych stočených tubuloch obličky a epitelových bunkách hrtana. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 134).

### Abnormálne tkanivá

Klon AR27 zafarbil 15/25 nádorov prsníka (vrátane 12/22 dukálnych karcinómov, 2/2 fibroadenómov a 1/1 lobulárneho karcinómu), 2/2 prostatických adenokarcinómov, 1/4 hepatocelulárnych karcinómov, 1/3 nádorov vaječníkov, 1/2 karcinómov svetlých buniek obličky, 1/2 nádorov slinnej žľazy, 1/2 adenokarcinómov maternice a 1/1 prostatickej hyperplázie. Žiadne farbenie sa nepozorovalo v rôznych ďalších abnormálnych hodnotených tkanivách vrátane nádorov čriev (0/9), nádorov štítnej žľazy (0/5), metastatických nádorov (0/5), nádorov mozgu (0/4), nádorov pľúc (0/4), lymfómov (0/3), nádorov pažeráka (0/3), nádorov žalúdka (0/3), nádorov nadobličiek (0/2), nádorov močového mechúra (0/2), kostných nádorov (0/2), nádorov hlavy a krku (0/2), seminómov (0/2), cervikálnych nádorov (0/2), nádoru jazyka (0/1), nádoru pankreasu (0/1), nádoru kože (0/1) a melanómu (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 93).

**AR-318 (AR27) sa odporúča na detekciu proteínu androgénového receptora (AR) v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.**

## Všeobecné limitácie

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

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

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

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

Protilátky spoločnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd sú určené na použitie na zmrazených rezoch alebo rezoch zaliatych parafínom so špecifickými požiadavkami na fixáciu, ako uvádza tento dokument. Najmä pri neopláziách môže dôjsť k nečakanej expresii antigénov. Klinická interpretácia akýchkoľvek farbených tkanivových rezov musí zahŕňať morfológickú analýzu a vyhodnotenie zodpovedajúcich kontrol.

### **Bibliografia – všeobecne**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. Journal of Cell Science. 2004; 117: 3539-3545.
6. Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. Experimental Dermatology. 2003; 12(2):181–190.
7. Walcott JL and Merry DE. Ligand promotes intranuclear inclusions in a novel cell model of spinal and bulbar muscular atrophy. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(52):50855–50859.
8. Collins AT, Habib FK, Maitland NJ, et al. Identification and isolation of human prostate epithelial stem cells based on  $\alpha 2\beta 1$ -integrin expression. Journal of Cell Science. 2001; 114:3865–3872.
9. Henshall SM, Quinn DI, Lee CS et al. Altered expression of Androgen Receptor in the malignant epithelium and adjacent stroma is associated with early relapse in prostate cancer. 2001. Cancer Research 61:423-427.

### **Úpravy predchádzajúceho vydania**

Neuplatňuje sa.

### **Dátum vydania**

02 Smieť 2019



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



Leica Biosystems Canada  
71 Four Valley Drive  
Concord, Ontario L4K 4V8  
Canada  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc  
1700 Leider Lane  
Buffalo Grove IL 60089  
USA  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne  
Pty Ltd  
495 Blackburn Road  
Mt Waverley VIC 3149  
Australia  
☎ +61 2 8870 3500