

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Cytokeratin 7

**Product Code: NCL-L-CK7-OVTL**

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



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

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

## Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

## Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

## Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

## Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

## Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

## Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

## Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instruțiuni de utilizare

Citiți aceste instruțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

## Check the integrity of the packaging before use.

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

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

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

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

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Cytokeratin 7

**Product Code: NCL-L-CK7-OVTL**

## Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-CK7-OVTL is intended for the qualitative identification by light microscopy of Cytokeratin 7 molecules in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

## Principle of Procedure

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

## Clone

OV-TL 12/30

## Immunogen

OTN 11 ovarian carcinoma cell line.

## Specificity

Human cytokeratin 7 intermediate filament protein.

## Reagent Composition

NCL-L-CK7-OVTL is a liquid tissue culture supernatant, presented in phosphate-buffered saline (pH 7.6) with 1% bovine serum albumin carrier protein and containing sodium azide as a preservative.

## Ig Class

IgG1, kappa

## Total Protein Concentration Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

## Antibody Concentration

Greater than or equal to 67 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for batch specific Ig concentration.

## Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

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

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

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

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

## Storage and Stability

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

## Specimen Preparation

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

## Warnings and Precautions

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

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

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

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

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

## Quality Control

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

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

## Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

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

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

Recommended positive control tissue is endometrium.

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

## Negative Tissue Control

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

Recommended negative control tissue is 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-CK7-OVTL 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 OV-TL 12/30 detects cytokeratin 7 in the cytoplasm of a large number of epithelial cell types including simple, complex, transitional, ductal and glandular epithelium. It consistently stains endometrium, lung alveoli, bile ducts in liver, pancreatic ducts, thyroid, distal convoluted tubules and collecting ducts in kidney. Staining was also seen in breast ducts and in the acinar cells of the salivary glands. Non-epithelial tissues such as smooth muscle, connective tissue, lymphoid tissue and blood vessels were consistently negative (Total normal tissues evaluated = 98).

### Abnormal Tissues

Clone OV-TL 12/30 stained 23/38 endometrioid adenocarcinomas, 30/41 adenocarcinomas of the stomach, 29/30 serous adenocarcinomas of the ovary, 25/38 hepatocellular carcinomas of the liver, 5/23 squamous cell carcinomas of the larynx, 2/3 squamous cell carcinomas of the cervix, 4/13 squamous cell carcinomas of the nasal and oral cavities, 5/5 mucinous adenocarcinomas of the ovary, 3/3 adenocarcinomas of the ovary, 2/2 papillary carcinomas of the thyroid, 3/3 adenocarcinomas of the pancreas, 3/3 adenocarcinomas of the lung, 5/5 adenocarcinomas of the gallbladder, 2/3 squamous cell carcinomas of the esophagus, 2/3 invasive ductal carcinomas of the breast and 2/3 transitional cell carcinomas of the bladder. No staining was seen in 0/2 adenocarcinomas of the prostate, 0/3 renal clear cell carcinomas, 0/3 adenocarcinomas of the colon and 0/3 astrocytomas (Total number of abnormal cases evaluated= 227).

**NCL-L-CK7-OVTL is recommended for the detection of human cytokeratin 7 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. *Histopathology*. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *Journal of Pathology*. 1991; 165(2):145–152.

## **Amendments to Previous Issue**

Reagent Composition, Total Protein Concentration, Recommendations on Use, Warnings and Precautions, Results Expected.

## **Date of Issue**

15 April 2019

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal liquide de Souris

## Cytokeratin 7

### Référence du Produit: NCL-L-CK7-OVTL

#### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-CK7-OVTL est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la molécule Cytokeratin 7 sur des coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

#### Principe de la Procédure

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

#### Clone

OV-TL 12/30

#### Immunogène

Lignée cellulaire de carcinome ovarien OTN 11.

#### Spécificité

Protéine du filament intermédiaire de la cytotkératine 7 humaine.

#### Composition du Réactif

NCL-L-CK7-OVTL est un surmagent de culture tissulaire liquide, présenté dans un tampon phosphate salin (pH 7,6) avec 1 % de protéine de transport d'albumine de sérum bovin contenant de l'azote de sodium comme conservateur.

#### Classe d'Ig

IgG1, kappa

#### Concentration Totale en Protéines Total Protein

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

#### Concentration en Anticorps

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

#### Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

**Récupération d'épitopes induites par la chaleur (HIER) :** S'il vous plaît suivre les instructions pour utilisation dans Novocastra Epitope Retrieval Solution pH6.

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

**Visualisation :** Veuillez respecter le mode d'emploi des Novolink™ Polymer Detection Systems. Pour obtenir davantage d'informations sur le produit ou une assistance, veuillez contacter votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems. Vous pouvez également consulter le site Internet de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Les performances de cet anticorps doivent être validées lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuels ou plateformes 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 surmagent 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'azote de sodium. Une Fiche de données de sécurité est disponible sur demande ou sur le site [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

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

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

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

### **Contrôle de Qualité**

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

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

### **Tissu de Contrôle Positif**

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

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

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

Le tissu de contrôle positif recommandé est l'endomètre.

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

### **Tissu de Contrôle Négatif**

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

Si ce n'est pas le cas, la diversité des types cellulaires présents dans la plupart des tissus permet de disposer fréquemment de sites de contrôle négatif, mais ils doivent être vérifiés par l'utilisateur.

S'il est présent, le marquage non spécifique prend habituellement une apparence diffuse. Un marquage sporadique du tissu conjonctif peut également être observé sur des coupes de tissus qui ont été fixées par un excès de formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats du marquage. Les cellules nécrotiques ou dégénérées sont souvent marquées de façon non spécifique.<sup>3</sup> Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique à des protéines ou à des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (foie, sein, cerveau, rein, par exemple) selon le type d'immunomarquage utilisé. Pour différencier l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être marqués exclusivement avec le substrat chromogène ou par des complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) et le substrat chromogène respectivement. Si un marquage spécifique se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats des spécimens du patient doivent être considérés comme invalides.

### **Réactif de Contrôle Négatif**

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

### **Tissu du Patient**

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-CK7-OVTL en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

### **Résultats Attendus**

#### Tissus normaux

Le clone OV-TL 12/30 détecte la cytokératine 7 dans le cytoplasme d'un grand nombre de types de cellules épithéliales, dont l'épithélium simple, complexe, transitionnel, canalaire et glandulaire. Il colore de manière systématique l'endomètre, les alvéoles du poumon, les canaux biliaires du foie, les canaux pancréatiques, la thyroïde, les tubules contournés distaux et les tubes collecteurs du rein. Une coloration a également été observée dans les canaux du sein et les cellules acineuses des glandes salivaires. Les tissus non-épithéliaux comme les muscles lisses, les tissus Conjonctifs, les tissus lymphoïdes et les vaisseaux sanguins étaient sans exception négatifs (nombre total de tissus normaux évalués = 98).

#### Tissus tumoraux

Le clone OV-TL 12/30 a coloré 23/38 adénocarcinomes de l'endomètre, 30/41 adénocarcinomes de l'estomac, 29/30 adénocarcinomes séreux de l'ovaire, 25/38 carcinomes hépatocellulaires du foie, 5/23 carcinomes à cellules squameuses du larynx, 2/3 carcinomes à cellules squameuses du col de l'utérus, 4/13 carcinomes à cellules squameuses des cavités buccale et nasale, 5/5 adénocarcinomes mucineux de l'ovaire, 3/3 adénocarcinomes de l'ovaire, 2/2 carcinomes papillaires de la thyroïde, 3/3 adénocarcinomes du pancréas, 3/3 adénocarcinomes du poumon, 5/5 adénocarcinomes de la vésicule biliaire, 2/3 carcinomes à cellules squameuses de l'œsophage, 2/3 carcinomes canaux biliaires invasifs du sein et 2/3 carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie. Aucune coloration n'a été observée dans 0/2 adénocarcinomes de la prostate, 0/3 carcinomes du rein à cellules claires, 0/3 adénocarcinomes du colon et 0/3 astrocytomes (nombre total de cas anormaux évalués = 227).

**Le NCL-L-CK7-OVTL est recommandé pour la détection de la cytokeratine 7 humaine dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément de 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. Van de Molengraaf FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

## **Amendements Apportés à la Version Précédente**

Composition du réactif, Concentration totale en protéines, Recommandations d'usage, Avertissements et Précautions, Résultats attendus.

## **Date de Publication**

15 avril 2019



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido

## Cytokeratin 7

### Codice Del Prodotto: NCL-L-CK7-OVTL

#### Uso Previsto

*Per uso diagnostico in vitro.*

NCL-L-CK7-OVTL è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica della molecole Cytokeratin 7, in sezioni incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

#### Principio Della Procedura

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

#### Clone

OV-TL 12/30

#### Immunogeno

Linea cellulare OTN 11 di carcinoma ovarico.

#### Specificità

Filamento proteico intermedio citocheratina 7 umana.

#### Composizione Del Reagente

NCL-L-CK7-OVTL è un supernatante liquido di coltura tissutale, presentato in tampone fosfato salino (pH 7,6) con l'1% di proteina albumina di siero bovino contenente azoturo di sodio come conservante.

#### Classe Ig

IgG1, kappa

#### Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

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

#### Concentrazione Anticorpale

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

#### Raccomandazioni Per L'uso

Immunostochimica su sezioni in paraffina.

**Smascheramento termoindotto dell'epitopo (HIER):** si raccomanda di seguire le istruzioni per l'uso di Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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

**Visualizzazione:** seguire le istruzioni per l'uso nei Novolink™ Polymer Detection Systems. Per ulteriori informazioni sul prodotto o supporto, rivolgersi al distributore di zona o all'ufficio regionale di Leica Biosystems. In alternativa, visitare il sito Web di Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Quando questo anticorpo viene utilizzato con altri sistemi di colorazione manuale o piattaforme automatizzate, le prestazioni dell'anticorpo devono essere verificate.

#### 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 azoturo di sodio. È disponibile su richiesta una scheda di sicurezza oppure sul 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.<sup>1</sup> Non pipettare i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con zone sensibili, sciacquare abbondantemente le parti interessate. Consultare il medico.

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

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

### **Controllo Qualità**

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

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

### **Controllo Positivo Del Tessuto**

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

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

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

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

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

### **Controllo Negativo Del Tessuto**

Va esaminato dopo il controllo positivo, per verificare la specificità nei confronti dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario. Il tessuto raccomandato per il controllo negativo è 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 aspecifico dall'immunoreattività specifica, possono essere colorati ulteriori tessuti del paziente esclusivamente con substrato cromogeno o con complessi enzimatici (avidina-biotina, streptavidina, polimero marcato) e substrato cromogeno. Se nel controllo negativo del tessuto compare una colorazione specifica, i risultati sui campioni biologici ottenuti dal paziente devono essere considerati non validi.

### **Controllo Negativo Del Reagente**

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

### **Tessuti Del Paziente**

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-CK7-OVTL. 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 immunoistochimici, 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 OV-TL 12/30 rileva la citocheratina 7 nel citoplasma di un ampio numero di tipi di cellule epiteliali, tra cui l'epitelio semplice, composto, transizionale, duttale e ghiandolare. Colora stabilmente endometrio, alveoli polmonari, dotti biliari epatici, dotti pancreatici, tiroide, tubuli contorti distali e dotti renali di raccolta. Colorazione è stata inoltre osservata nei dotti mammari e nelle cellule acinose delle ghiandole salivari. I tessuti non epiteliali quali muscolatura liscia, tessuto connettivo, tessuto linfoide e vasi sanguigni si sono stabilmente rivelati negativi (numero totale di tessuti normali esaminati = 98).

#### Tessuti tumorali

Il clone OV-TL 12/30 ha colorato 23 di 28 adenocarcinomi endometrioidi, 30 di 41 adenocarcinomi dello stomaco, 29 di 30 adenocarcinomi sierici dell'ovaio, 25 di 38 carcinomi epatocellulari del fegato, 5 di 23 carcinomi a cellule squamose della laringe, 2 di 3 carcinomi a cellule squamose della cervice, 4 di 13 carcinomi a cellule squamose delle cavità orale e nasale, 5 di 5 adenocarcinomi mucinosi dell'ovaio, 3 di 3 adenocarcinomi dell'ovaio, 2 di 2 carcinomi papillari della tiroide, 3 di 3 adenocarcinomi del pancreas, 3 di 3 adenocarcinomi del polmone, 5 di 5 adenocarcinomi della cistifellea, 2 di 3 carcinomi a cellule squamose dell'esofago, 2 di 3 carcinomi duttali invasivi della mammella e 2 di 3 carcinomi a cellule transizionali della vescica. Nessuna colorazione è stata osservata in 0 di 2 adenocarcinomi della prostata, 0 di 3 carcinomi renali a cellule chiare, 0 di 3 adenocarcinomi del colon e 0 di 3 astrocitomi (numero totale di casi anomali esaminati = 227).

**L'uso di NCL-L-CK7-OVTL è consigliato per il rilevamento della proteina citocheratina 7 umana nei tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di 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. 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

## Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

Composizione del reagente, Concentrazione proteica totale, Raccomandazioni per l'uso, Avvertenze e precauzioni, Risultati attesi.

## Data Di Pubblicazione

15 aprile 2019

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper Cytokeratin 7 Produkt-Nr.: NCL-L-CK7-OVTL

## Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-CK7-OVTL ist für den qualitativen Nachweis der Cytokeratin 7-Moleküle in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie gedacht. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

## Verfahrensgrundlage

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

## Klon

OV-TL 12/30

## Immunogen

OTN-11-Ovarkarzinomzelllinie.

## Spezifität

Intermediäres Filamentprotein des humanen Zytokeratins 7.

## Reagenzzusammensetzung

NCL-L-CK7-OVTL ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der in mit Natriumazid als Konservierungsmittel enthaltener phosphatgepufferter Salzlösung (pH 7,6) mit 1 % Albumin-Trägerprotein mit Rinderserum vorliegt.

## Ig-Klasse

Kappa-IgG1

## Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Chargenspezifische Gesamtproteinkonzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

## Antikörperkonzentration

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

## Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie bei Paraffinschnitten.

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

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

**Visualisierung:** Bitte Gebrauchsanweisung in den Novolink™ Polymer Detection Systems befolgen. Weitere Produktinformationen oder Support erhalten Sie von Ihrem lokalen Vertriebspartner oder der regionalen Niederlassung von Leica Biosystems oder alternativ auf der Leica Biosystems Website: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Die Leistung dieses Antikörpers sollte unter Verwendung anderer manueller Färbesysteme oder automatischer Plattformen validiert werden.

## 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 steht auf Anfrage oder unter folgender Adresse zur Verfügung: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

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

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Für die positive Gewebekontrolle wird Endometrium-Gewebe empfohlen.

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

### **Negative Gewebekontrolle**

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

Für die negative Gewebekontrolle wird Kleinhirngewebe empfohlen.

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

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

### **Negative Reagenzkontrolle**

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

### **Patientengewebe**

Die mit NCL-L-CK7-OVTL gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. 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

Der Klon OV-TL 12/30 erkennt Zytokeratin 7 im Zytoplasma einer großen Anzahl von Epithelzelltypen einschließlich einfacher, komplexer, duktaler, Übergangs- und Drüsenepithelien. Er färbt konsistent Endometrium, Alveolen in der Lunge, Gallengänge in der Leber, Gänge in der Bauchspeicheldrüse, Schilddrüse, distale Tubuli und Sammelgänge der Niere. Färbung wurde ebenfalls in den Brustgängen und den Azinuszellen der Speicheldrüse festgestellt. Nicht-Epithelgewebe wie z. B. glatte Muskulatur, Bindegewebe, lymphatische Gewebeproben und Blutgefäße, waren stets negativ (Anzahl der insgesamt untersuchten normalen Gewebeproben = 98).

## Tumorgewebe

Der Klon OV-TL 12/30 führte zu einer Färbung bei 23/38 endometroiden Adenokarzinomen, 30/41 Adenokarzinomen des Magens, 29/30 serösen Adenokarzinomen der Eierstöcke, 25/38 hepatozellulären Karzinomen der Leber, 5/23 Plattenepithelkarzinomen des Larynx, 2/3 Plattenepithelkarzinomen des Gebärmutterhalses, 4/13 Plattenepithelkarzinomen der Nasen- und Mundhöhle, 5/5 muzinösen Adenokarzinomen der Eierstöcke, 3/3 Adenokarzinomen der Eierstöcke, 2/2 papillären Karzinomen der Schilddrüse, 3/3 Adenokarzinomen der Bauchspeicheldrüse, 3/3 Adenokarzinomen der Lunge, 5/5 Adenokarzinomen der Gallenblase, 2/3 Plattenepithelkarzinomen der Speiseröhre, 2/3 invasiven Duktalkarzinomen der Brust und 2/3 Übergangsepithelkarzinomen der Blase. Es wurde keine Färbung bei 0/2 Adenokarzinomen der Prostata, 0/3 klarzelligigen Nierenkarzinomen, 0/3 Adenokarzinomen des Darms und 0/3 Astrozytomen festgestellt (Anzahl der insgesamt untersuchten abnormalen Gewebeproben = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL wird für den Nachweis von humanem Cytokeratin 7-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-Objektträgers 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. 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. Van de Molengraaf FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

## **Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe**

Reagenzzusammensetzung, Gesamtproteinkonzentration, Anwendungsempfehlungen, Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen, erwartete Ergebnisse.

## **Ausgabedatum**

15 April 2019

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal líquidos de Ratón

## Cytokeratin 7

### Código De Producto: NCL-L-CK7-OVTL

#### Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-CK7-OVTL está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Cytokeratin 7. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Principio Del Procedimiento

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

#### Clon

OV-TL 12/30

#### Inmunógeno

Línea de células de carcinoma del ovario OTN 11 .

#### Especificidad

Proteína del filamento intermedio citoqueratina 7 humana.

#### Composición Del Reactivo

NCL-L-CK7-OVTL es un sobrenadante de cultivo tisular líquido presente en solución salina amortiguada en fosfato (pH 7,6) con un 1 % de proteína portadora de albúmina sérica bovina que contiene azida sódica como conservante.

#### Clase de Ig

IgG1, kappa

#### Concentración Total De Proteína Total Protein

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

#### Concentración De Anticuerpo

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

#### Recomendaciones De Uso

Cortes de parafina o inmunohistoquímica.

**HIER (por sus siglas, Recuperación del epítipo inducido por calor):** Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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

Visualización: Por favor, siga las instrucciones de uso de los Novolink™ Polymer Detection System. Para obtener más información sobre el producto o recibir ayuda, póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems; también puede visitar 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 Ficha de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

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

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

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

### **Control De Calidad**

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

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

### **Control Tisular Positivo**

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

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

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

El tejido de control positivo recomendado es endometrio.

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

### **Control Tisular Negativo**

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

El tejido de control negativo recomendado es cerebelo.

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

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

### **Control De Reactivo Negativo**

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

### **Tejido Del Paciente**

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-CK7-OVTL 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 OV-TL 12/30 detecta citoqueratina 7 en el citoplasma de un gran número de tipos de células epiteliales, incluyendo los tejidos epiteliales simples, complejos, de transición, ductales y glandulares. Tiñe sistemáticamente el endometrio, alveolos pulmonares, conductos de la bilis en el hígado, conductos pancreáticos, tiroides, túbulos convolutos distales y conductos recolectores del riñón. También se observó tinción en conductos mamarios y células acinosas de las glándulas salivares. Los tejidos no epiteliales, como el músculo liso, el tejido conectivo, el tejido linfóide y los vasos sanguíneos fueron sistemáticamente negativos (número total de tejidos sanos evaluados = 98).



## Tejidos tumorales

El clon OV-TL 12/30 produjo tinción en 23/38 adenocarcinomas del endometrio, 30/41 adenocarcinomas estomacales, 29/30 adenocarcinomas serosos de los ovarios, 25/38 carcinomas hepatocelulares del hígado, 5/23 carcinomas de células escamosas de la laringe, 2/3 carcinomas de células escamosas del cuello uterino, 4/13 carcinomas de células escamosas de las cavidades nasales y orales, 5/5 adenocarcinomas mucinosos de los ovarios, 3/3 adenocarcinomas del ovario, 2/2 carcinomas papilares tiroideos, 3/3 adenocarcinomas del páncreas, 3/3 adenocarcinomas pulmonares, 5/5 adenocarcinomas de la vesícula biliar, 2/3 carcinomas de células escamosas del esófago, 2/3 carcinomas ductales invasivos de la mama y 2/3 carcinomas de células de transición de la vejiga. No se detectó tinción en 0/2 adenocarcinomas de la próstata, 0/3 carcinomas renales de célula clara, 0/3 adenocarcinomas del colon y 0/3 astrocitomas (número total de casos anómalos evaluados = 227).

**El NCL-L-CK7-OVTL está recomendado para la detección de la proteína citoqueratina 7 humana 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

## **Correcciones A La Publicación Anterior**

Composición del reactivo, concentración total de proteína, recomendaciones de uso, advertencias y precauciones, resultados esperados.

## **Fecha De Publicación**

15 de abril de 2019

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal líquido de Ratinho

## Cytokeratin 7

### Código Do Produto: NCL-L-CK7-OVTL

#### Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-CK7-OVTL foi concebido para efectuar a identificação qualitativa da moléculas de Cytokeratin 7 por microscopia óptica, em secções parafinizadas. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

#### Princípio Do Procedimento

As técnicas de coloração imunohistoquímica (IHQ) 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

OV-TL 12/30

#### Imunogénio

Linha celular de carcinoma do ovário OTN 11.

#### Especificidade

Proteína dos filamentos intermediários da citoceratina 7 humana.

#### Composição Do Reagente

NCL-L-CK7-OVTL é um sobrenadante líquido da cultura de um tecido, apresentado em tampão fosfato-salino (pH 7,6) com 1% de proteína transportadora de albumina de soro de bovino e contendo azida de sódio como produto conservante.

#### Classe De Ig

IgG1, capa

#### Concentração Total De Proteína Total Protein

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

#### Concentração De Anticorpo

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

#### Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de parafina.

**Recuperação de epitopo induzida por calor (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Siga as instruções de utilização da Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

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

**Visualização:** Siga as instruções de utilização de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obter mais informações do produto ou apoio, contacte o seu distribuidor local ou o gabinete regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com/pt/](http://www.LeicaBiosystems.com/pt/)

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

#### 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 de sódio. Encontra-se disponível uma Ficha de Dados de Segurança do Material, mediante pedido ou através do site [www.LeicaBiosystems.com/pt/](http://www.LeicaBiosystems.com/pt/)

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 o endométrio.

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

## Controlo De Tecido Negativo

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

O controlo de tecido negativo recomendado é 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 do doente coloridas com NCL-L-CK7-OVTL 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 OV-TL 12/30 deteta citoqueratina 7 no citoplasma de uma grande quantidade de tipos de células epiteliais incluindo epitélio simples, complexo, de transição, ductal e glandular. Cora constantemente o endométrio, alvéolos pulmonares, ductos biliares no fígado, ductos pancreáticos, tiroide, túbulos contornados distais e ductos coletores no rim. Observou-se igualmente coloração em ductos de mama e nas células acinosas das glândulas salivares. Tecidos não epiteliais, como músculo liso, tecido conjuntivo, tecido linfóide e vasos sanguíneos foram consistentemente negativos (número total de tecidos normais avaliados = 98).

### Tecidos tumorais

O clone OV-TL 12/30 corou 23/38 adenocarcinomas endometrioides, 30/41 adenocarcinomas do estômago, 29/30 adenocarcinomas serosos do ovário, 25/38 carcinomas hepatocelulares do fígado, 5/23 carcinomas das células escamosas da laringe, 2/3 carcinomas das células escamosas do colo do útero, 4/13 carcinomas das células escamosas das cavidades nasais e orais, 5/5 adenocarcinomas mucosas do ovário, 3/3 adenocarcinomas do ovário, 2/2 carcinomas papilares da tiroide, 3/3 adenocarcinomas do pâncreas, 3/3 adenocarcinomas do pulmão, 5/5 adenocarcinomas da vesícula biliar, 2/3 carcinomas das células escamosas do esófago, 2/3 carcinomas ductais invasivos da mama e 2/3 carcinomas das células de transição da bexiga. Não se observou coloração em 0/2 adenocarcinomas da próstata, 0/3 carcinomas das células claras renais, 0/3 adenocarcinomas do cólon e 0/3 astrocitomas (número total de casos anormais avaliados = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL é recomendado para a deteção de proteína de citoqueratina 7 humana 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

## Emendas Da Edição Anterior

Composição do Reagente, Concentração Total de Proteína, Recomendações Sobre a Utilização, Avisos e Precauções, Resultados Previstos.

## Data De Emissão

15 de Abril de 2019

# Novocastra™ Flytande Monoklonal Musantikropp

## Cytokeratin 7

### Produktkod: NCL-L-CK7-OVTL

#### Avsedd Användning

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-CK7-OVTL är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av Cytokeratin 7-molekyler i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patalog 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

OV-TL 12/30

#### Immunogen

OTN 11 äggstockscarcinom cellinje.

#### Specifitet

Intermediärt filamentprotein från humant cytokeratin 7.

#### Reagensinnehåll

NCL-L-CK7-OVTL är en flytande vävnadskultursupernatant, som levereras i fosfatbuffrad saltlösning (pH 7,6) med 1 % bovint serumalbumin proteinbärare och med natriumazid som konserveringsmedel.

#### Ig-klass

IgG1, kappa

#### Total Proteinkoncentration

Total Protein

Se flaskans etikett för specifik, total proteinkoncentration.

#### Antikropps-koncentration

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

#### Rekommendationer Vid Användning

Immunohistokemi på paraffinsnitt.

**Värmeinducerad epitopåtervinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Följ bruksanvisningen på Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Föreslagen spädning:** 1:50 i 30 minuter vid 25 °C. Detta tillhandahålls som en guide och användare bör bestämma sina egna optimala arbetsspädningar.

**Visualisering:** Följ bruksanvisningen i Novolink™ Polymer Detection Systems. Du kan få en kopia av materialsäkerhetsdatabladet genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor eller också på Leica Biosystems webbplats, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Denna antikropps prestanda ska valideras när den används tillsammans med andra manuella färgningssystem eller automatiska 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% neutralbuffrad 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. Ett datablad för materialsäkerhet finns tillgängligt på begäran eller från [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

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

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

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

## Kvalitetskontroll

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

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

## Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

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

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

Livmoderslemlinna rekommenderas som positiv kontrollvävnad.

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

## Negativ Vävnadskontroll

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

Lillhjärnan rekommenderades som negativ kontrollvävnad.

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

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

## Negativ Reagenskontroll

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

## Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-CK7-OVTL sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrunds-färgning 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 OV-TL 12/30 detekterar cytokeratin 7 i cytoplasman hos ett stort antal celler av epitelial typ, inklusive enkel, komplex, övergångs-, dukaltalt och glandulärt epitel. Det färgar konsekvent endometriet, lungalveolerna, gallgångarna i levern, pankreasgångarna, sköldkörteln, distala, spiralformiga tubuli och samlingskanalerna i njure. Färgning sägs också i bröstgångarna och i de acinära cellerna i spottkörtlarna. Icke-epiteliala vävnader, såsom glattmuskulatur, bindvävnad, lymfoidvävnad och blodkärl, var konsekvent negativa (totalt normala vävnader som utvärderades = 98).

### Tumörvävnader

Klon OV-TL 12/30 färgade 23/38 endometroida adenocarcinom, 30/41 adenocarcinom i magen, 29/30 serösa adenocarcinom i äggstock, 25/38 hepatocellulära carcinom i levern, 5/23 skvamösa carcinom i struphuvudet, 2/3 skivepitelcancer i cervix, 4/13 skvamösa carcinom i nasala och orala håligheter, 5/5 mucinösa adenocarcinom i äggstock, 3/3 adenocarcinom i äggstock, 2/2 papillära carcinom i sköldkörteln, 3/3 adenocarcinom i pankreas, 3/3 adenocarcinom i lunga, 5/5 adenocarcinom i gallblåsan, 2/3 skivepitelcancer i matstrupen, 2/3 invasiva, duktaala carcinom i bröst och 2/3 övergångscellcarcinom i urinblåsan. Ingen färgning sägs i 0/2 adenocarcinom i prostata, 0/3 klarcellscarcinom i njure, 0/3 adenocarcinom i tjocktarmen och 0/3 astrocytom (totalt antal onormala fall som utvärderades = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL rekommenderas för detektering av humant cytokeratin 7-protein i normala eller neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användning av icke-immunologiska histokemiska färger.**

## 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>

Överflödig 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 its 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. Van de Molengraaf FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

## **Rättelser Av Tidigare Utgivning**

Reagenskomposition, total proteinkoncentration, antikropps-koncentration, rekommendationer om användning, varningar och försiktighetsåtgärder, förväntade resultat.

## **Utgivningsdatum**

15 april 2019

# Novocastra™ Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Cytokeratin 7

## Κωδικός είδους: NCL-L-CK7-OVTL

### Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το NCL-L-CK7-OVTL προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρωπίνης Μόρια Cytokeratin 7 σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν ασωτούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

### Αρχή Της Διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε 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

OV-TL 12/30

### Ανοσογόνο

OTN 11, κυτταρική σειρά καρκινώματος ωοθηκών.

### Ειδικότητα

Ενδιάμεση ινιδιακή πρωτεΐνη της ανθρωπίνης κυτοκερατίνης 7.

### Σύνθεση Αντιδραστηρίου

Το NCL-L-CK7-OVTL είναι ένα κεκαθαρισμένο κλάσμα, που παρουσιάζεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7,6) με 1% πρωτεΐνη-φορέα αλβουμίνης βόειου ορού που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

### Τάξη Ig

IgG1, κ

### Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

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

### Συγκέντρωση Αντισώματος

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

### Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε τομές παραφίνης.

**Ανάκτηση επιτόπων επαγόμενη με θερμότητα (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης για το Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Προτεινόμενη αραιώση:** 1:50 για 30 λεπτά σε 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους βέλτιστες αραιώσεις εργασίας.

**Οπτικοποίηση:** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης των Novolink™ Polymer Detection Systems. Για περισσότερες πληροφορίες για το προϊόν ή για υποστήριξη, επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα σας 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. Το Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού διατίθεται κατόπιν αιτήματος ή από τη διεύθυνση [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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



Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετάδοσης λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις.<sup>1</sup> Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπίετα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφυγήτε την επαφή του δέρματος 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 ετερογενεία 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 ενδομήτριο.

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

## Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επίσημης της 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 θέσεις 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 συνδεδετικού ιστού σε τομές από ιστούς που έχουν μονιμοποιηθεί με υπερβολική ποσότητα φορμόλης. Χρησιμοποιείτε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης. Νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα παρουσιάζουν συχνά μη ειδική χρώση.<sup>3</sup> Ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης των πρωτεϊνών ή των προϊόντων αντίδρασης του υποστρώματος. Ενδέχεται επίσης να προκληθούν από ενδογενή ένζυμα, όπως η ψευδοπεροξειδάση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπεροξειδάση (κυτόχρωμα C) ή η ενδογενής βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο αναστοχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμευσης των ενζύμων από ειδική αναστοχαστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστού ασθενούς με χρωμόμοιο υποστρώματις ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημειωμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμόμοιο, 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

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-CK7-OVTL. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε αναστοχαστική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα ιστού στο που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί Ιστοί

Ο κλώνος OV-TL 12/30 ανιχνεύει κυτοκερατίνη 7 στο κυτόπλασμα μεγάλου αριθμού τύπων επιθηλιακών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων, απλών, σύνθηνων, μεταστατικών, πορογόνων και αδενικού επιθηλίου. Προκαλεί συστηματική χρώση στο ενδομήτριο, τις κυμελίδες του πνεύμονα, τους χοληφόρους πόρους του συκωτιού, τους παγκρεατικούς πόρους, τον θυροειδή, τα άπω εστειριαμένα νεφρικά σωληνάρια και τα συλλεκτικά σωληνάρια του νεφρού. Χρώση παρατηρήθηκε επίσης σε σωληνάρια του μαστού και στα κυμελώδη κύτταρα των σιελόπορων αδένων. Μη-επιθηλιακοί ιστοί όπως λεία μύες, συνδεδετικός ιστός, λεμφοειδής ιστός και αιμοφόρα αγγεία ήταν σταθερά αρνητικά (Σύνολο αξιολογηθέντων φυσιολογικών ιστών = 98).

### Καρκινικοί Ιστοί

Ο κλώνος OV-TL 12/30 προκαλεί χρώση σε 23/38 των ενδομήτριων αδενοκαρκινωμάτων, 30/41 των αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου, 29/30 των υδαρών αδενοκαρκινωμάτων των ωοθηκών, 25/38 των ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων του συκωτιού, 5/23 των πλακωδών καρκινωμάτων του λάρυγγα, 2/3 των πλακωδών κυττάρων καρκινωμάτων του τραχήλου της μήτρας, 4/13 των πλακωδών κυττάρων καρκινωμάτων της ρινικής και στοματικής κοιλότητας, 5/5 των βλεννοβών αδενοκαρκινωμάτων των ωοθηκών, 3/3 των αδενοκαρκινωμάτων των ωοθηκών, 2/2 των θηλοειδών καρκινωμάτων του θυροειδούς, 3/3 των αδενοκαρκινωμάτων του παγκρέατος, 3/3 των αδενοκαρκινωμάτων του πνεύμονα, 5/5 των αδενοκαρκινωμάτων της χοληδόχου κύστης, 2/3 των πλακωδών κυττάρων καρκινωμάτων του οισοφάγου, 2/3 των διηθητικών πορογόνων καρκινωμάτων του μαστού και 2/3 των μεταστατικών κυττάρων καρκινωμάτων στην ουροδόχο κύστη. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε 0/2 των αδενοκαρκινωμάτων του προστάτη, 0/3 των διακυτοκυτταρικών καρκινωμάτων, 0/3 των αδενοκαρκινωμάτων του ορθού και 0/3 των αστροκυττωμάτων (Συνολικός αριθμός αξιολογηθέντων μη φυσιολογικών περιπτώσεων = 227).

**Το NCL-L-CK7-OVTL συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης κυτοκερατίνης 7 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, 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 διακυβεύσει 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. *Histopathology*. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *Journal of Pathology*. 1991; 165(2):145–152.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Σύνθεση Αντιδραστηρίου, Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης, Συστάσεις Για Τη Χρήση, Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις, Αναμενόμενα Αποτελέσματα.

## Ημερομηνία Έκδοσης

15 Απριλίου 2019

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof Cytokeratin 7 Produktkode: NCL-L-CK7-OVTL

## Tilsigtede Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-CK7-OVTL er beregnet til kvalitativ identifikation af Cytokeratin 7-molekyler i paraffinsnit ved lysmikroskopi. Klinisk fortolkning af farvning eller mangel herpå 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

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

## Klon

OV-TL 12/30

## Immunogen

OTN 11-ovariecarcinomcellelinie.

## Specifitet

Humant intermediært cytokeratin 7-filamentprotein.

## Reagenssammensætning

NCL-L-CK7-OVTL er en supernatant med flydende vævskultur, præsenteret i fosfatbufferet saltopløsning (pH 7,6) med 1 % bovint serumalbuminbærerprotein og indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

## Ig-klasse

IgG1, kappa

## Totalproteinkoncentration

Total Protein

Den partisspecifikke totale proteinkoncentration kan findes på hætteglassets etiket.

## Antistofkoncentration

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

## Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Varmeinduceret epitopgenfindning (HIER):** Følg brugsanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslået fortynding:** 1:50 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun vejledende, og brugerne skal bestemme deres egne optimale arbejdsopløsninger.

**Visualisering:** Følg brugsanvisningen til Novolink™ Polymer Detection Systems. For yderligere produktinformation eller support kan du kontakte din lokale forhandler eller regionskontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøge Leica Biosystems' hjemmeside på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Udførelsen af dette antistof bør valideres, når den anvendes sammen 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.

Reagenset indeholder natriumazid. Et sikkerhedsdatablad er tilgængeligt efter forespørgsel eller tilgængeligt fra [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Konsulter landsdækkende og lokale love og regler vedrørende bortskaffelse af alle potentielt toksiske komponenter.

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

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

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

### Kvalitetskontrol

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

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

### Positiv Vævskontrol

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

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

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

Anbefalet positivt kontrolvæv er livmoderslimhinde.

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

### Negativ Vævskontrol

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

Det anbefalede negative kontrolvæv er lillehjerne.

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

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-CK7-OVTL 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 OV-TL 12/30 detekterer cytokeratin 7 i cytoplasmaet af et stort antal epithelceller, herunder simple, komplekse, overgangs-, duktale og glandulære epithelium. Den farver konsekvent endometrium, lungalveoler, galdekanaler i lever, bugspytkirtlen, skjoldbruskkirtlen, distale kronblade og samlekanaler i nyrer. Farvning blev også set i brystkanaler og i spytkirtelens acinarceller. Ikke-epitheliale væv såsom glat muskel, bindevæv, lymfoidvæv og blodkar var konsekvent negative (samlet antal normale væv, der blev evalueret = 98).

#### Tumorvæv

Klon OV-TL 12/30 farvede 23/38 endometroid-adenocarcinomer, 30/41 adenocarcinomer i maven, 29/30 serøse adenocarcinomer i æggestokken, 25/38 hepatocellulære carcinomer i leveren, 5/23 pladecellecarcinomer i strubehovedet, 2/3 pladecellecarcinomer i livmoderhalsen, 4/13 pladecellecarcinomer i næse- og mundhulen, 5/5 mucinøse adenocarcinomer i æggestokken, 3/3 adenocarcinomer i æggestokken, 2/2 papillære carcinomer i skjoldbruskkirtlen, 3/3 adenocarcinomer i bugspytkirtlen, 3/3 adenocarcinomer i lungen, 5/5 adenocarcinomer i galdeblæren, 2/3 squamouscellcarcinomer i spiserøret, 2/3 invasive ductal carcinomer i brystet og 2/3 overgangscellecarcinomer i blæren. Der blev ikke observeret farvning i 0/2 adenocarcinomer i prostata, 0/3 renalcellecarcinomer, 0/3 adenocarcinomer i tyktarmen og 0/3 astrocytomer (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL anbefales til påvisning af human cytokeratin 7-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af 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, opåbning, 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 irregulariteter 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. *Histopathology*. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *Journal of Pathology*. 1991; 165(2):145–152.

### **Rettelser Til Tidligere Udgave**

Reagenssammensætning, total proteinkoncentration, anbefalinger vedrørende anvendelse, advarsler og forholdsregler, forventede resultater.

### **Udgivelsesdato**

15 april 2019

# Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muisantilichaam Cytokeratin 7

**Productcode: NCL-L-CK7-OVTL**

## Beoogd gebruik

*Voor gebruik bij in-vitrodiagnostiek*

NCL-L-CK7-OVTL is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie, van cytokeratine 7-moleculen in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van elke kleuring of het ontbreken hiervan moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste controles en moet binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests worden geëvalueerd door een bevoegd patholoog.

## Principe van de procedure

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

## Kloon

OV-TL 12/30

## Immunogeen

OTN 11 eierstokcarcinoom cellijn

## Specificiteit

Humaan cytokeratine 7-eiwit in intermediaire filamenten.

## Reagenssamenstelling

NCL-L-CK7-OVTL is een vloeibaar supernatant uit weefselweek, die wordt aangeboden in fosfaatgebufferde zoutoplossing (pH 7,6) met 1% runderserumalbumine-dragereiwit en met natriumazide als conserveringsmiddel.

## Ig-klasse

IgG1, kappa

## Totale eiwitconcentratie Total Protein

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

## Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 67 mg/L zoals bepaald door ELISA. Zie het flaconlabel voor specifieke Ig-concentratie van de partij.

## Aanbevelingen voor het gebruik

Immunohistochemie op paraffinecoupes.

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

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

**Visualisatie:** Volg de instructies voor het gebruik in de Novolink™ Polymer Detection Systems. Voor verdere productinformatie of -ondersteuning kunt u contact opnemen met uw lokale distributeur of de regionale vestiging van Leica Biosystems of u kunt naar de Leica Biosystems Website gaan, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

De prestaties van dit antilichaam moeten worden gevalideerd bij gebruik met andere handmatige kleuringssystemen of geautomatiseerde platformen.

## Opslag en stabiliteit

Bewaar bij 2–8°C. Niet invriezen. Direct na gebruik weer bij 2–8°C opslaan. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het etiket van de flacon staat. Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd.

## Monsterpreparatie

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

## Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

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

Dit reagens bevat natriumazide. Een veiligheidsinformatieblad is verkrijgbaar op aanvraag of op [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor het afvoeren van potentieel giftige componenten.

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

Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen.

Andere incubatietijden of temperaturen dan hierin vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

## Kwaliteitscontrole

Verschillen in weefselbewerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen tot aanzienlijke variabiliteit in de resultaten leiden, waardoor het nodig is om regelmatig interne controles uit te voeren in aanvulling op de volgende procedures.

Controles zijn verse autopsie-/biopsie-/chirurgische monsters die zo snel mogelijk en op dezelfde manier als het monster of de monsters van de patiënt zijn gefixeerd in formaline, bewerkt en ingebed in paraffinewas.

## Positieve weefselcontrole

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

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

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

Aanbevolen positief controleweefsel is baarmoederslijmvlies.

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

## Negatieve weefselcontrole

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

Aanbevolen negatief controleweefsel is cerebellum.

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

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

## Negatieve reagenscontrole

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

## Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-CK7-OVTL zijn gekleurd als laatste. De intensiteit van de positieve kleuring moet worden geëvalueerd binnen de context van niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of het onderzochte weefsel. Gebruik zo nodig een panel antilichamen om fout-negatieve reacties te identificeren.

## Verwachte resultaten

### Normale weefsels

Kloon OV-TL 12/30 detecteert cytokeratine 7 in het cytoplasma van een groot aantal epitheliale celsoorten, waaronder eenvoudig, complex, transitieel, ductaal en glandulair epitheel. Het kleurt consequent het baarmoederslijmvlies, longblaasjes, galwegen in de lever, pancreaskanalen, schildklier, distaal ingewikkelde tubuli en verzamelkanalen in de nier. Kleuring werd ook opgemerkt in melkkanalen en in de acinaire cellen van de speekselklieren. Niet-epitheliale weefsels zoals glad spierweefsel, bindweefsel, lymfoïde weefsels en bloedvaten waren zijn consistent negatief (totaal aantal beoordeelde normale weefsels = 98).

### Afwijkende weefsels

Kloon OV-TL 12/30 kleurde 23/38 endometrium-adenocarcinomen, 30/41 adenocarcinomen van de maag, 29/30 sereus cystadenocarcinoom van het ovarium, 25/38 hepatocellulaire carcinomen van de lever, 5/23 plaveiselcelcarcinomen van de larynx, 2/3 plaveiselcelcarcinomen van de cervix, 4/13 plaveiselcelcarcinomen van de neus- en mondholte, 5/5 mucineuze adenocarcinomen van de eierstok, 3/3 adenocarcinomen van de eierstok, 2/2 papillaire carcinomen van de schildklier, 3/3 adenocarcinomen van de pancreas, 3/3 adenocarcinomen van de long, 5/5 adenocarcinomen van de galblaas, 2/3 plaveiselcelcarcinomen van de slokdarm, 2/3 invasieve ductale carcinomen van de borst en 2/3 overgangscelcarcinomen van de blaas. Geen kleuring werd gezien in 0/2 adenocarcinomen van de prostaat, 0/3 'clear cell'-niercarcinomen, 0/3 adenocarcinomen van de colon en 0/3 astrocytomen (total aantal beoordeelde afwijkende gevallen = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL wordt aanbevolen voor het detecteren van humaan cytokeratine 7-eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.**

**Algemene beperkingen**

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

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

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

De klinische interpretatie van elke kleuring of het ontbreken hiervan moet worden aangevuld door morfologische studies met de juiste controles en moet binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests worden geëvalueerd door een bevoegd patholoog.

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

**Literatuurlijst – algemeen**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

**Aanpassingen ten opzichte van de vorige uitgave**

Reagentiasamenstelling, Totale Proteïneconcentratie, Aanbevelingen over het Gebruik, Waarschuwingen en Voorzorgsmaatregelen, Verwachte Resultaten.

**Datum uitgave**

15 april 2019



# Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff Cytokeratin 7

## Produktkode: NCL-L-CK7-OVTL

### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-CK7-OVTL skal brukes til kvalitativ identifikasjon av cytokeratin 7-molekyler i parafinsnitt ved lysmikroskopering. Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester.

### Prinsipp for prosedyren

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

### Klon

OV-TL 12/30

### Immunogen

OTN 11 eggstokkarsinom-cellelinje.

### Spesifisitet

Humant cytokeratin 7, intermediat filamentprotein.

### Reagenssammensetning

NCL-L-CK7-OVTL er en flytende vevskultursupernatant presentert i fosfatbufret saltvann (pH 7,6) med 1 % av bærerproteinet bovint serumalbumin og med natriumazid som konserveringsmiddel.

### Ig-klasse

IgG1, kappa

### Totalproteinkonsentrasjon Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for partisspesifikk totalproteinkonsentrasjon.

### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 19 mg/l som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for batchspesifikk Ig-konsentrasjon.

### Anbefalinger for bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

**Varmeindusert epitopgenfinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Følg bruksanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Foreslått fortynning:** 1:50 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun veiledende, og brukerne bør fastslå egne optimale fortynninger for sitt arbeid.

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

Ytelsen til dette antistoffet skal valideres når det brukes med andre systemer for manuell farging eller automatiserte plattformer.

### Oppbevaring og stabilitet

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

### Prøveklargjøring

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

## Advarsler og forholdsregler

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

Denne reagensen inneholder natriumazid. Et sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på forespørsel eller tilgjengelig fra [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avhending av potensielt toksiske komponenter.

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

Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i ikke-spesifikk farging.

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

## Kvalitetskontroll

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

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

## Positiv vevkontroll

Brukes for å indikere riktig klargjorte vev og riktige fargingsteknikker.

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

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

Anbefalt positivt kontrollvev er fra endometrium.

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

## Negativ vevkontroll

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

Anbefalt negativt kontrollvev er cerebellumvev.

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

Ikke-spesifikk farging, hvis dette forekommer, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev vil også kunne observeres i vevsniitt som er fiksert i for mye formalin. Bruk intakte celler til tolkning av fargingsresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikk.<sup>3</sup> Falske positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter.

De kan også forårsakes av endogene enzymer slik som pseudoperoksidase (erytrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av type immunfarging som brukes. For å differensiere endogen enzymaktivitet eller ikke-spesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet kan ekstra pasientvev farges eksklusivt med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det forekommer spesifikk farging i de negative vevkontrollene, skal resultater med pasientprøvene betraktes som ugyldige.

## Negativ reagenskontroll

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

## Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-CK7-OVTL sist. Positiv fargingsintensitet skal vurderes i lys av eventuell ikke-spesifikk bakgrunnsfarging i den negative reagenskontrollen. På samme måte som for alle andre immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet ikke var til stede i cellene / det analyserte vevet. Om nødvendig, skal det brukes et panel med antistoffer til å identifisere falske negative reaksjoner.

## Forventede resultater

### Normale vev

Klon OV-TL 12/30 detekterer cytokeratin 7 i cytoplasmaet og membranen i et stort antall epitelcelletyper, inkludert enkle, komplekse, transisjonelle, duktale og av kjertelepiteltypen. Den farger konsekvent endometrium, alveoli pulmonis, pankreatiske kanaler, tyreoida, distale spiralformede rør og samlekanaler i nyre. Farging ble også observert i brystkanaler og i acinarcellene i spyttkjertlene. Ikke-epitela vev som glatt muskulatur, bindevev, lymfoid vev og blodkar er konsekvent negative (totalt antall evaluerte normal vev = 98).

### Unormale vev

Klon OV-TL 12/30 farget 23/38 endometroide adenokarsinomer, 30/41 adenokarsinomer i magen, 29/30 alvorlige adenokarsinomer i ovariet, 25/38 hepatocellulære karsinomer i leveren, 5/23 skvamøse cellekarsinomer i larynx, 2/3 skvamøse cellekarsinomer i cervix, 4/13 skvamøse cellekarsinomer i nasale og orale kaviteter, 5/5 mucinøse adenokarsinomer i ovariet, 3/3 adenokarsinomer i ovariet, 2/2 papillære karsinomer i tyreoida, 3/3 adenokarsinomer i pankreas, 3/3 adenokarsinomer i lungene, 5/5 adenokarsinomer i galleblære, 2/3 skvamøse cellekarsinomer i øsofag, 2/3 invasive duktale karsinomer i brystet og 2/3 transisjonelle cellekarsinomer i blæren. Ingen farging ble observert i 0/2 adenokarsinomer i prostata, 0/3 renale klarcellekarsinomer, 0/3 adenokarsinomer i kolon og 0/3 astrocytomer (totalt antall evaluerte unormale tilfeller = 227).

## **NCL-L-CK7-OVTL anbefales for deteksjon av humant Cytokeratin 7-protein i normale og neoplastiske vev, som et tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.**

### **Generelle begrensninger**

Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som krever spesialisert opplæring i valg av egnede reagenser, valg, fiksering og behandling av vev, klargjøring av IHC-objektglass og tolkning av fargingsresultater. Vevfargingen er avhengig av håndteringen og behandlingen av vevet før det farges. Uriktig fiksering, dypfrysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, fanging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder eller uregelmessigheter i vevet.<sup>4</sup> Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan hindre riktig tolkning av resultater. Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester. Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er til bruk, som indisert, på enten frosne eller paraffinnestøpte snitt med spesifikke fikseringskrav. Det kan forekomme uventet antigenuttrykk, spesielt i neoplasmer. Den kliniske tolkningen av ethvert farget vevsnitt må inkludere morfologisk analyse 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

### **Endringer på tidligere utgave**

Reagenssammensetning, Totalproteinkonsentrasjon, Anbefalinger for bruk, Advarsler og forholdsregler, Forventede resultater.

### **Utstedelsesdato**

15 april 2019

# Novocastra™ Likit Monoklonal Fare Antikoru Cytokeratin 7

## Ürün Kodu: NCL-L-CK7-OVTL

### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanım içindir.

NCL-L-CK7-OVTL, parafin bölümlerindeki Sitokeratin 7 moleküllerinin ışık mikroskopisi ile kalitatif tanımlanması için tasarlanmıştır. Herhangi bir boyanmanın veya yokluğunun klinik yorumlaması hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler bağlamında nitelikli bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

### İşlem Prensipleri

İmmünohistokimyasal (İHK) boyama teknikleri, antijene ardışık olarak belirli bir antikoru uygulanması (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikorun uygulanması ve aralardaki yıkama adımları ile, antijenlerin kromojenik substratlı bir enzim kompleksi yoluyla görselleştirilmesine olanak tanır. Kromojenin enzimle etkinleştirilmesi, antijen alanında gözle görülebilen bir tepkiye yol açar. Numune daha sonra karşıt boyanabilir ve lamelle örtülebilir. Sonuçlar bir ışık mikroskobu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabileceği veya olmayabilecek patofizyolojik süreçlerin ayrıncı tanısına yardımcı olur.

### Clone

OV-TL 12/30

### İmmünojen

OTN 11 yumurtalık karsinom hücre hattı.

### Özgüllük

İnsan sitokeratin 7 ara filament proteini.

### Reaktif Bileşimi

NCL-L-CK7-OVTL, %1 bovin serum albumini taşıyıcı proteiniyle fosfat tamponlu salinde (pH 7,6) sunulan ve koruyucu madde olarak sodyum azit içeren supernatant bir sıvı doku kültürüdür.

### Ig Sınıfı

IgG1, kappa

### Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özgü toplam protein konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 67 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Seriyeye özgü Ig konsantrasyonu için flakon etiketine bakın.

### Kullanım Önerileri

Parafin kesitlerinde immünohistokimya.

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

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

**Görselleştirme:** Lütfen Novolink™ Polymer Detection Systems'in kullanım talimatlarını izleyin. Ürünle ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçebilirsiniz ya da bunun yerine Leica Biosystems Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

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

### Saklama ve Stabiliteler

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

### Numune Hazırlama

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

### Uyarılar ve Önemler

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

Bu reaktif sodyum azid içerir. Malzeme Güvenlik Bilgileri Formu talep üzerine sağlanmaktadır ve [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) sitesinde mevcuttur. Olası toksik bileşenlerin atılması ile ilgili yerel, bölgesel veya ulusal düzenlemelere başvurun.

Fiksasyondan önce ve sonra örnekler ve onlara maruz kalmış bütün materyaller, enfeksiyon yayılabileceği gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak atılmalıdır.<sup>1</sup> Reaktifleri hiçbir zaman ağızla pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya numuneler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin. Reaktiflerin mikrobiyel kontaminasyonunu minimuma indirin yoksa nonspesifik boyanmada bir artış olabilir.

Belirtilenler dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kalite Kontrol

Kullanıcının laboratuvarında doku işleme ve teknik işlemlerdeki farklar sonuçlarda önemli değişkenliğe neden olabilir ve aşağıdaki işlemlere ek olarak düzenli şekilde tesis içi kontrollerin kullanılmasını gerektirir.

Kontroller, hasta numunesi/numuneleriyle aynı şekilde mümkün olduğunca kısa süre içinde formalin fiksasyonlu, işlenmiş ve parafine gömülmüş taze otopsi/biyopsi/cerrahi materyal olmalıdır.

## Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve uygun boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

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

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

Önerilen pozitif kontrol dokusu endometriyumdur.

Eğer pozitif doku kontrolü pozitif boyanma göstermezse, test numunelerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

## Negatif Doku Kontrolü

Primer antikor tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin spesifikliğini doğrulamak için, pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Önerilen negatif kontrol dokusu serebellumdur.

Alternatif olarak çoğu doku kesitinde bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği sıklıkla negatif kontrol bölgeleri sunar ama bu durum kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Eğer varsa nonspesifik boyanmanın görünümü genellikle difüzdür. Aşırı formalin fiksasyonlu dokulardan kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da görülebilir. Boyanma sonuçlarının yorumlanması için sağlam hücreler kullanın. Nekrotik ve dejenere hücreler genellikle spesifik olmayan şekilde boyanır.<sup>3</sup> Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünohistokimyasal olmayan bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Bu sonuçlar ayrıca, kullanılan immün-boyaya bağlı olarak psödo peroksidad (eritrositler), endojen peroksidad (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimlerden de kaynaklanabilir. Endojen enzim aktivitesini veya nonspesifik enzim bağlanmasını spesifik immünoreaktiveden ayırmak için ek hasta dokuları sırasıyla sadece substrat kromojen veya enzim kompleksleri (avidin-biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyanma olursa hasta numunelerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

## Negatif Reaktif Kontrolü

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek ve antijen bölgesinde spesifik boyanmayı daha iyi yorumlayabilmek için her hasta örneği kesitinde primer antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın.

## Hasta Dokusu

NCL-L-CK7-OVTL ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan herhangi bir arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Her immünohistokimyasal testle olduğu gibi negatif bir sonuç antijenin saptanmadığı anlamına gelir ve antijenin çalışılan hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez. Gerekiyorsa yalnızca negatif reaksiyonları tanımlamak için bir antikor paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Klon OV-TL 12/30; basit, kompleks, transizyonel, duktal ve glandüler epitelyum da dahil olmak üzere çok farklı tiplerdeki epitelyum hücrelerinin sitoplazmasında sitokeratin 7'yi saptar. Endometriyum, akciğer alveolleri, karaciğer safra kanalları, pankreatik kanalları, tiroid, distal konvolüte tübüller ve böbrek toplama kanallarını tutarlı olarak boyar. Meme kanallarında ve tükürük bezlerinin asinar hücrelerinde de boyama görülmüştür. Düz kas, bağ dokusu, lenfoid doku ve kan damarları gibi epitel olmayan dokuların tutarlı olarak negatif olduğu görülmüştür (Değerlendirilen toplam normal doku sayısı = 98).

### Anormal Dokular

Klon OV-TL 12/30; 23/38 endometroid adenokarsinomlarını, 30/41 mide adenokarsinomlarını, 29/30 yumurtalık seroz adenokarsinomlarını, 25/38 karaciğer hepatoselüler karsinomlarını, 5/23 gırtlak skuamöz hücreli karsinomları, 2/3 servikal skuamöz hücreli karsinomları, 4/13 burun ve oral kavite skuamöz hücre karsinomlarını, 5/5 yumurtalık musinöz adenokarsinomlarını, 3/3 yumurtalık adenokarsinomlarını, 2/2 tiroid papiller karsinomlarını, 3/3 pankreas adenokarsinomlarını, 3/3 akciğer adenokarsinomlarını, 5/5 safra kesesi adenokarsinomlarını, 2/3 yutak skuamöz hücreli karsinomlarını, 2/3 meme invazif duktal karsinomlarını ve 2/3 mesane transizyonel hücre karsinomlarını boyamıştır. 0/2 prostat adenokarsinomlarında, 0/3 renal berrak hücreli karsinomlarında, 0/3 kolon adenokarsinomlarında ve 0/3 astrositomlarda boyama görülmemiştir (Değerlendirilen toplam anormal vaka sayısı = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL, immünohistokimyasal olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak normal ve neoplastik dokularda insan sitokeratin 7 proteininin saptanması için önerilir.**

## Genel Sınırlamalar

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

Doku boyama, boyama öncesinde dokunun kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikor tutulmasına veya yalancı negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki değişikliklerden ya da dokunun yapısından kaynaklanan düzensizliklerden kaynaklanabilir.<sup>4</sup>

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

Herhangi bir boyanmanın veya yokluğunun klinik yorumlaması hastanın klinik öyküsü ve diğer tanısal testler bağlamında nitelikli bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeli ve uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd'in antikorları, belirtilen şekilde, özel fiksasyon gereklilikleriyle parafine gömülmüş veya dondurulmuş kesitler üzerinde kullanılır. Özellikle neoplazmlarda beklenmeyen antijen ekspresyonu oluşabilir. Herhangi bir boyanmış doku kesitinin klinik yorumu morfolojik analizi 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

## Önceki Sayıya Göre Değişiklikler

Reaktif Bileşimi, Toplam Protein Konsantrasyonu, Kullanım Hakkında Öneriler, Uyarılar ve Önlemler, Beklenen Sonuçlar.

## Yayın Tarihi

15 Nisan 2019

# Течно мише моноклонално антитяло Novocastra™ Cytokeratin 7

## Код на продукта: NCL-L-CK7-OVTL

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-CK7-OVTL е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на молекули цитокератин 7 в парафинови срези. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

### Принцип на процедурата

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

### Клонинг

OV-TL 12/30

### Имуноген

Клетъчна линия на овариален карцином OTN 11.

### Специфичност

Човешки цитокератин 7 интермедиерен филаментен протеин.

### Състав на реагента

NCL-L-CK7-OVTL е течен супернатант от тъканна култура, предоставен във фосфатно буферизиран физиологичен разтвор (pH 7,6) с протеинов носител 1% говежди серумен албумин и съдържащ натриев азид като консервант.

### Имуноглобулинов клас

IgG1, капа антитяло

### Обща концентрация на протеин

Total Protein

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

### Концентрация на антитела

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

### Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

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

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

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

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

### Съхранение и стабилност

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

### Подготовка на спесимени

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

### Предупреждения и предпазни мерки

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

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

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

Всички спесимени преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тях, трябва да се третираят като възможни преносители на инфекция и да се извървялят, като се вземат правилни предпазни мерки.<sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

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

Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

## Качествен контрол

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

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

## Позитивна тъканна контрола

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

Една позитивна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тестови условия при всяка серия проби за оцветяване.

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

Препоръчителната тъкан за позитивна контрола е ендометриум.

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

## Негативна тъканна контрола

Трябва да се изследва след позитивната тъканна контрола, за да се провери специфичността на белязването на таргетния антиген от първичното анти тяло.

Препоръчителната тъкан за негативна контрола е малкият мозък.

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

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

Може да се видят неверни позитивни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата. Те може да са причинени и от ендогенни ензими, като например псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване. За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична 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 негативната тъканна контрола, резултатите от спесимените на пациентите трябва да се считат за невалидни.

## Негативна контрола на реагента

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

## Тъкан от пациента

Изследвайте спесимените на пациенти, оцветени последно с NCL-L-CK7-OVTL. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираният клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от анти тела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

Клонинг OV-TL 12/30 открива цитокератин 7 в цитоплазмата на голям брой епителни типове клетки, включително прост, сложен, преходен, дуктален и жлезист епител. Той последователно оцветява ендометриума, белодробните алвеоли, жлъчните канали в черния дроб, каналите на панкреаса, щитовидната жлеза, дисталните извити каналчета и събирателните каналчета в бъбреците. Оцветяване се наблюдава също в млечните каналчета и в ацинозните клетки на слюнчените жлези. Неепителните тъкани, като например гладките мускули, съединителната тъкан, лимфоидната тъкан и кръвоносните съдове, са последователно негативни (Общ брой на оценените нормални тъкани = 98).

### Абнормни тъкани

Клонинг OV-TL 12/30 оцветява 23/38 аденокарцинома на ендометриума, 30/41 аденокарцинома на стомаха, 29/30 серозни аденокарцинома на яйчниците, 25/38 хепатоклетъчни карцинома на черния дроб, 5/23 плоскоклетъчни карцинома на ларинкса, 2/3 плоскоклетъчни карцинома на цервикса, 4/13 плоскоклетъчни карцинома на носната и устната кухина, 5/5 муцинозни аденокарцинома на яйчниците, 3/3 аденокарцинома на яйчниците, 2/2 папиларни карцинома на щитовидната жлеза, 3/3 аденокарцинома на панкреаса, 3/3 аденокарцинома на белия дроб, 5/5 аденокарцинома на жлъчния мехур, 2/3 плоскоклетъчни карцинома на хранопровода, 2/3 инвазивни дуктални карцинома на гърдата и 2/3 преходноклетъчни карцинома на пикочния мехур. Не се наблюдава оцветяване при 0/2 аденокарцинома на простатата, 0/3 светлоклетъчни карцинома на бъбреците, 0/3 аденокарцинома на ободното черво и 0/3 астроцитома (Общ брой на оценените абнормни случаи = 227).



**Продуктът NCL-L-CK7-OVTL се препоръчва за откриване на човешки протеин цитокератин 7 в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.**

### **Общи ограничения**

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

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, сръзване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини поява на артефакти, блокиране на антителата или фалшиво отрицателни резултати. Несъответстващите резултати може да се дължат на вариации в методите на фиксация и вграждане или на присъща нерегулярност в тъканта.<sup>4</sup> Прекомерното или непълно контраоцветяване може да попречи на правилната интерпретация на резултатите.

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

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

### **Библиография – основна**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

### **Изменения на предишно издание**

Състав на реагента, Концентрация на общ протеин, Препоръки за употреба, Предупреждения и предпазни мерки, Очаквани резултати.

### **Дата на издаване**

15 Април 2019

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest

## Cytokeratin 7

**Termékkód: NCL-L-CK7-OVTL**

### Alkalmazási terület

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-CK7-OVTL a citokeratin 7 molekulák fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

### Az eljárás elve

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

### Klón

OV-TL 12/30

### Immunogén

OTN 11 petefészek-karcinóma sejtvonal.

### Specifititás

Humán citokeratin 7 intermedier filamentum fehérje.

### A reagens összetétele

Az NCL-L-CK7-OVTL egy foszfátpufferes sóoldatban (pH 7,6) hígított, 1% szarvasmarha-szérumalbumin hordozófehérjét és tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

### Ig-osztály

IgG1, kappa

### Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

### Antitest-koncentráció

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

### Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémia paraffinos metszeteken.

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

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

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

Más manuális festési rendszerekkel vagy automata platformokkal való használat esetén validálni kell az antitest teljesítményét.

### Tárolás és stabilitás

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

### A minták előkészítése

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

### Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejtkultúra felülúszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor ésszerű körültekintéssel kell eljárni. Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági adatlapot igény esetén rendelkezésre bocsátjuk, illetve elérhető a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

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

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

Minimálisra kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés. A megadottaktól eltérő inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

## Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában alkalmazott szövetfeldolgozási és technikai eljárások eltérései jelentős különbséget okozhatnak az eredményekben, ami az alábbi eljárásokon túl belső kontrollok rendszeres futtatását teszi szükségessé. Kontrollként friss boncolási/biopsziás/sebészeti mintákat kell használni, amelyeket a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formalinban fixálni, feldolgozni és paraffinvaszba ágyazni.

## Pozitív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos. Minden tesztelési körülménygyűttes esetében és minden megfestési sorozatban kell alkalmazni egy pozitív szövetkontrollt. A gyengén pozitív festődésű szövet alkalmasabb az erősebben pozitív festődésű szövetnél az optimális minőség-ellenőrzéshez, valamint a kismértékű reagensbomlás észleléséhez.<sup>2</sup>

A javasolt pozitív kontrollszövet az endometrium.

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

## Negatív szövetkontroll

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

A javasolt negatív kontrollszövet a kisagy.

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

Ha van nem specifikus festődés, az rendszerint diffúz megjelenésű. A formalinban túlfixált szövetekből származó metszeteknél a kötőszövet szórányos festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejteket használjon. A nekrotizált vagy degenerálódtott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> A fehérvérj vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Okozhatja 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 az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetéséhez további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát–kromogén oldattal vagy enzimmolekulákkal (avidin-biotin, sztreptavidin, jelölt polimer) és szubsztrát–kromogénnel. Ha a negatív szövetkontroll specifikus festődést mutat, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

## Negatív reagenskontroll

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

## Betegszövet

Az NCL-L-CK7-OVTL reagenssel festett betegmintákat vizsgálja meg utolsóként. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagenskontroll esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje. Mint minden immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtekben/ szövetben. Szükség esetén az álnegatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

## Várható eredmények

### Normál szövetek

Az OV-TL 12/30 klón kimutatja a citokeratin 7-et számos hámszejttípus citoplazmájában, beleértve az egyrétegű, többrétegű, átmeneti, dukális és mirigyhámokat. Következatosan megfesti az endometriumot, a tüdő alveolusait, a májban az epevezetéseket, a hasnyálmirigy-vezetéseket, a pajzsmirigyet, valamint a vese disztális kanyarulatok csatornát és gyűjtőcsatornát. Emellett festődés volt megfigyelhető az emlő csatornáiban, valamint a nyálmirigy acinussejtjeiben. A nem epiteliális szövetek, például a simaizom, kötőszövet, limfoid szövet és vérekek következetesen negatívak voltak (vizsgált normál szövetek összesített száma = 98).

### Kóros szövetek

Az OV-TL 12/30 klón megfestett 23/38 endometriális adenokarcinómát, 30/41 gyomor-adenokarcinómát, 29/30 szerózus petefészek-adenokarcinómát, 25/38 máj hepatocelluláris karcinómát, 5/23 laphámsejtes gégekarcinómát, 2/3 laphámsejtes méhnyak-karcinómát, 4/13 laphámsejtes orr- és szájüregi karcinómát, 5/5 mucinózus petefészek-adenokarcinómát, 3/3 petefészek-adenokarcinómát, 2/2 papilláris pajzsmirigy-karcinómát, 3/3 hasnyálmirigy-adenokarcinómát, 3/3 tüdő-adenokarcinómát, 5/5 epehólyag-adenokarcinómát, 2/3 laphámsejtes nyelőcső-karcinómát, 2/3 invazív dukális emlőkarcinómát és 2/3 átmeneti sejtis húgyhólyag-karcinómát. Nem volt festődés megfigyelhető a prosztata-adenokarcinómák (0/2), világossejtes vesekarcinómák (0/3), vastagbél-adenokarcinómák (0/3) és asztrocitómák (0/3) esetében (vizsgált kóros esetek összesített száma = 227).

**Az NCL-L-CK7-OVTL a humán citokeratin 7 fehérvérje kimutatására ajánlott egyszételes és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszöveti eljárások kiegészítéseként.**

## Általános korlátozások

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

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

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

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

elvégeznie.

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

### **Bibliográfia – általános**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Van de Molengraaf FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

### **Módosítások az előző változathoz képest**

A reagens összetétele, Összfehérje-koncentráció, Felhasználási javaslatok, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Várható eredmények.

### **Kiadás dátuma**

15 április 2019

# Novocastra™ Anticorp monoclonal lichid de șoarece

## Cytokeratin 7

### Cod produs: NCL-L-CK7-OVTL

#### Utilizare prevăzută

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-CK7-OVTL este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a moleculelor de Citokeratină 7 în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

#### Principiul de procedură

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

#### Clonă

OV-TL 12/30

#### Imunogen

Linie celulară OTN 11 de carcinom ovarian.

#### Specificitate

Proteină filamentoasă intermediară 7 de citokeratină umană.

#### Compoziția reactivului

NCL-L-CK7-OVTL este un supernatant de cultură tisulară lichid, prezentat în soluție salină tamponată cu fosfat (pH 7,6) cu proteină purtătoare albumină de ser bovin 1% conținând azidă de sodiu drept conservant..

#### Clasa Ig

IgG1, kappa

#### Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

#### Concentrație anticorpi

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

#### Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

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

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

**Vizualizare:** Respectați instrucțiunile de utilizare din Novolink™ Polymer Detection Systems. Pentru 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

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

#### Pregătirea specimenului

Mediul de fixare recomandat este formalină tamponată 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 manipularea sa.

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

Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurile a oricăror componente cu potențial toxic.

Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate la deșeurile luând măsurile de precauție adecvate.<sup>1</sup> Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul reactivilor și specimenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

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

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

## Controlul calității

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

## Țesutul de control pozitiv

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

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

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

Țesutul de control pozitiv recomandat este endometrul.

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

## Țesutul de control negativ

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

Țesutul de control negativ recomandat este cerebelul.

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

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

## Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ non-specific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen al pacientului pentru a evalua colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorării specifice la situsul antigenului.

## Țesutul pacientului

Examinați speciemenle pacientului colorate cu NCL-L-CK7-OVTL ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fond nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un panel pentru anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Clona OV-TL 12/30 detectează citokeratina 7 în citoplasma unui număr mare de tipuri de celule epiteliale, incluzând epiteliul simplu, complex, tranzițional, ductal și glandular. Colorează în mod consecvent endometrul, alveolele pulmonare, canalele biliare ale ficatului, canalele pancreatice, tiroida, tuburile spiralete distale și canalele colectoare renale. A fost de asemenea observată colorare în canalele mamare și celulele acinare ale glandelor salivare. Țesuturile non-epiteliale, cum ar fi mușchii netezi, țesutul conjunctiv, țesutul limfoid și vasele de sânge au fost constant negative (Număr total de țesuturi normale evaluate = 98).

### Țesuturi anormale

Clona OV-TL 12/30 a colorat 23/38 adenocarcinoame endometroide, 30/41 adenocarcinoame ale stomacului, 29/30 adenocarcinoame seroase ale ovarului, 25/38 carcinoame hepatocelulare ale ficatului, 5/23 carcinoame cu celule scuamoase ale laringelui, 2/3 carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin, 4/13 carcinoame cu celule scuamoase ale cavităților nazală și bucală, 5/5 adenocarcinoame mucinoase ale ovarului, 3/3 adenocarcinoame ale ovarului, 2/2 carcinoame papilare ale tiroidei, 3/3 adenocarcinoame ale pancreasului, 3/3 adenocarcinoame ale plămânilui, 5/5 adenocarcinoame ale vezicii biliare, 2/3 carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului, 2/3 carcinoame mamare ductale invazive și 2/3 carcinoame cu celule tranziționale ale vezicii urinare. Nu a fost observată vreă colorare în 0/2 adenocarcinoame ale prostatei, 0/3 carcinoame cu celule renale clare, 0/3 adenocarcinoame ale colonului și 0/3 astrocitoame (Număr total de cazuri anormale evaluate = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL este recomandat pentru detectarea proteinei umane de citokeratină 7 în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant la histopatologia convențională utilizând colorații histochemice neimunologice.**

## Limitări generale

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

Colorarea tisulară depinde de manipularea și procesarea țesutului înainte de colorare. Fixarea, congelarea, dezghețarea, spălarea,

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

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

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

Anticorpii de la Leica Biosystems Newcastle Ltd sunt destinați utilizării, conform indicațiilor, fie pe secțiuni congelate, fie pe secțiuni încorporate în parafină cu cerințe de fixare specifice. Poate apărea exprimarea neașteptată a antigenului, în special în neoplasme.

Interpretarea clinică a oricărei secțiuni tisulare colorate trebuie să includă analiza morfologică și evaluarea probelor de control adecvate.

### **Bibliografie - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. *Histopathology*. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *Journal of Pathology*. 1991; 165(2):145–152.

### **Amendamente la ediția anterioară**

Compoziția reactivilor, Concentrația totală a proteinelor, Concentrația anticorpului, Recomandări de utilizare, Avertizări și măsuri de precauție, Rezultate preconizate.

### **Data publicării**

15 aprilie 2019

# Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ Cytokeratin 7

## Код продукта: NCL-L-CK7-OVTL

### Назначение

*Для диагностики in vitro*

Препарат NCL-L-CK7-OVTL предназначен для качественного определения молекул Cytokeratin 7 в парафиновых срезах методом световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

### Принцип метода

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

### Клон

OV-TL 12/30

### Иммуноген

Клеточная линия карциномы яичников OTN 11.

### Специфичность

Цитокератин 7 — белок промежуточных филаментов клеток человека.

### Состав реактива

NCL-L-CK7-OVTL является супернатантом жидкой культуры тканей, представленной в фосфатно-солевом буферном растворе (pH 7,6) с 1%-ным альбумином бычьей сыворотки, которая в качестве консерванта содержит азид натрия.

### Класс иммуноглобулинов

Иммуноглобулин G1, каппа (IgG1, kappa)

### Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Концентрация антитела

Не менее 67 мкг/мл при измерении методом ИФА. Концентрация иммуноглобулина, соответствующая данной серии, указана на этикетке флакона.

### Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

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

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

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

Если данные антитела используются с другими автоматизированными платформами или системами для окрашивания образцов, которое выполняется вручную, их характеристики следует валидировать.

### Хранение и стабильность

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

### Подготовка образцов

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

### Предупреждения и меры предосторожности

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

Этот реактив содержит азид натрия. Паспорт безопасности химической продукции предоставляется по запросу или доступен на сайте: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).



По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.

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

## Контроль качества

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

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

## Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

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

В качестве положительного контроля рекомендуется ткань эндометрия.

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

## Отрицательный контроль ткани

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

В качестве отрицательного контроля рекомендуется ткань мозжечка.

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

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

## Отрицательный контроль реактива

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

## Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы взятой у пациента ткани, которые окрашены с помощью NCL-L-CK7-OVTL, в последнюю очередь.

Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания отрицательного контроля реактива. 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 OV-TL 12/30 обнаруживает цитокератин 7 в цитоплазме большого числа типов эпителиальных клеток, включая простой, сложный, переходный, протоковый и железистый эпителий. Он неизменно окрашивает эндометрий, легочные альвеолы, желчные протоки в печени, протоки поджелудочной железы, ткани щитовидной железы, дистальные извитые каналцы и собирательные трубочки почек. Окрашивание также наблюдалось в протоках молочной железы и в адинарных клетках слюнных желез. Незитителиальные ткани, такие как гладкомышечная, соединительная, лимфоидная, а также ткани кровеносных сосудов были неизменно отрицательны с точки зрения окрашивания (общее число образцов исследованных нормальных тканей = 98).

### Патологически измененные ткани

Клон OV-TL 12/30 окрасил 23/38 случаев эндометриоидной аденокарциномы, 30/41 случая аденокарциномы желудка, 29/30 случаев серозной цистаденокарциномы яичника, 25/38 случаев гепатоцеллюлярной карциномы печени, 5/23 случаев плоскоклеточной карциномы гортани, 2/3 случаев плоскоклеточной карциномы шейки матки, 4/13 случаев плоскоклеточной карциномы носовой и ротовой полости, 5/5 случаев слизистой аденокарциномы яичника, 3/3 случаев аденокарциномы яичника, 2/2 случаев папиллярной карциномы щитовидной железы, 3/3 случаев аденокарциномы поджелудочной железы, 3/3 случаев аденокарциномы легкого, 5/5 случаев аденокарциномы желчного пузыря, 2/3 случаев плоскоклеточной карциномы пищевода, 2/3 случаев инвазивной карциномы протоков молочной железы и 2/3 случаев карциномы переходных клеток мочевого пузыря.

При следующих случаях окрашивания не наблюдалось: 0/2 случаев аденокарциномы простаты, 0/3 случаев светлоклеточной почечной карциномы, 0/3 случаев аденокарциномы толстой кишки и 0/3 случаев астроцитомы (общее число исследованных патологически измененных образцов = 227).

**NCL-L-CK7-OVTL рекомендует использовать для обнаружения белка цитокератина 7 человека в здоровых и пораженных опухолью тканях в качестве дополнения к обычным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.**

### **Общие ограничения**

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

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

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

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

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

### **Литература — общая**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. 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. Van de Molengraaf FJMM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

### **Дополнения к предыдущему выпуску**

Состав реактивов, суммарная концентрация белка, рекомендации по использованию, предупреждения и меры предосторожности, предполагаемые результаты.

### **Дата выпуска**

15 Апрель 2019

# Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™

## Cytokeratyna 7

### Kod produktu: NCL-L-CK7-OVTL

#### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Preparat NCL-L-CK7-OVTL jest przeznaczony do jakościowej identyfikacji za pomocą mikroskopii świetlnej cząsteczek cytokeratyny 7 w skrawkach parafinowych. Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

#### Zasady postępowania

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

#### Klon

OV-TL 12/30

#### Immunogen

Linia komórkowa raka jajnika OTN 11.

#### Swoistość

Ludzkie białko filamentów pośrednich cytokeratyny 7.

#### Skład odczynnika

NCL-L-CK7-OVTL to płynny supernatant kultury tkankowej dostarczony w soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (pH 7,6) z 1% białka nośnika surowiczej albuminy wołowej i konserwowany azydkiem sodu.

#### Klasa Ig

IgG1, kappa

#### Całkowite stężenia białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Stężenie przeciwciał

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

#### Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków zatopionych w parafinie.

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

**Sugerowane rozcieńczenie:** 1:50 przez 30 minut w temperaturze 25 °C. Są to jedynie wskazówki i użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

**Wizualizacja:** Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania dołączoną do Novolink™ Polymer Detection Systems. W celu uzyskania dodatkowych informacji o produkcie lub 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)

Jeżeli przeciwciało jest używane jednocześnie z innymi ręcznymi metodami barwienia lub platformami automatycznymi, należy zweryfikować jego działanie.

#### Przechowywanie i trwałość

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

#### Przygotowanie próbek

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

#### Ostrzeżenia i środki ostrożności

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

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

Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.

Próbki przed i po utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników

ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza. Chronić odczynnik przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego. Zastosowanie okresów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

### Kontrola jakości

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

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

### Tkankowa kontrola pozytywna

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

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

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

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować endometrium.

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

### Tkankowa kontrola negatywna

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

Tkankowa kontrola negatywna powinna obejmować mózdzek.

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

Barwienie niespecyficzne, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utrwalonego w formalinie można również zaobserwować sporadyczne barwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieuszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują barwienie niespecyficzne.<sup>3</sup> Wyniki fałszywie pozytywne mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub występowania produktów reakcji substratów. Mogą być również spowodowane przez endogenne enzymy, takie jak pseudoperoxydaza (erytrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna 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 enzymatycznych (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenem. Jeśli w trakcie tkankowej kontroli negatywnej nastąpi barwienie specyficzne, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

### Negatywna kontrola odczynnika

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

### Tkanka pacjenta

Próbki pobrane od pacjenta barwione NCL-L-CK7-OVTL należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego barwienia niespecyficznego tła w negatywnej kontroli odczynnika. Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, co jednak nie oznacza, że jest on nieobecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności do identyfikacji reakcji fałszywie negatywnych należy wykorzystać panel przeciwciał.

### Oczekiwane wyniki

#### Tkanki prawidłowe

Klon OV-TL 12/30 wykrywa cytotkeratynę 7 w cytoplazmie wielu typów komórek nabłonkowych, w tym prostych, złożonych i przejściowych, przewodowych i gruczołowych. Konsekwentnie wybarwia endometrium, pęcherzyki płucne, drogi żółciowe w wątrobie, przewody w trzustce, tarczycę, kanałki dystalne i kanałki zbiorcze w nerkach. Barwienie zaobserwowano również w przewodach sutkowych i komórkach groniastych gruczołów ślinowych. Tkanki nienabłonkowe, takie jak mięśnie gładkie, tkanka łączna, tkanka limfatyczna i naczynia krwionośne, są konsekwentnie negatywne. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych tkanek = 98).

#### Tkanki nieprawidłowe

Klon OV-TL 12/30 wybarwił 23/38 gruczołokraki endometrialne, 30/41 gruczołokraków żołądka, 29/30 surowiczych gruczołokraków jajnika, 25/38 raków wątrobowokomórkowych wątroby, 5/23 raków płaskonabłonkowych krtani, 2/3 raki płaskonabłonkowe szyjki macicy, 4/13 raki płaskonabłonkowe jamy nosowej i jamy ustnej, 5/5 śluzowych gruczołokraków jajnika, 3/3 gruczołokraki jajnika, 2/2 raki brodawkowate tarczycy, 3/3 gruczołokraki trzustki, 3/3 gruczołokraki płuca, 5/5 gruczołokraków pęcherzyka żółciowego, 2/3 raki płaskonabłonkowe przelyku, 2/3 inwazyjne raki przewodowe sutka i 2/3 raki pęcherza moczowego. Nie stwierdzono barwienia w przypadku 0/2 gruczołokraków, 0/3 rakach jasnokomórkowych, 0/3 gruczołokrakach okrężnicy i 0/3 gwiaździakach (całkowita liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 227).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-CK7-OVTL do wykrywania ludzkiego białka cytotkeratyny 7 w tkankach prawidłowych i nowotworowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.**

## Ograniczenia ogólne

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

Barwienie tkanek zależy od postępowania z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, ścinanie skrawków lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub wyniki fałszywie negatywne. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i zatapiania lub nieprawidłowości związanej z tkanką.<sup>4</sup>

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

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

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

## Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Van de Molengraaf FJMM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. *Histopathology*. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *Journal of Pathology*. 1991; 165(2):145–152.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

Skład odczynnika, Całkowite stężenie białka, Zalecenia dotyczące stosowania, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Spodziewane wyniki.

## Data publikacji

15 kwietnia 2019

# Tekoče mišje monoklonsko protitelo Novocastra™

## Cytokeratin 7

### Koda izdelka: NCL-L-CK7-OVTL

#### Predvidena uporaba

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Izdelek NCL-L-CK7-OVTL je namenjen za kvalitativno identifikacijo molekul citokeratina 7 v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

#### Načelo postopka

Imunohistokemijske (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z izvajanjem zaporednega nanosa - z vmesnimi koraki izpiranja - specifičnega protitelesa na antigen (primarno 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 s krovnim stekelcem. Rezultate nato obdelamo s pomočjo svetlobnega mikroskopa in jih uporabimo pri diferencialni diagnozi patološko-fizioloških procesov, ki so morda povezani z določenim antigenom ali pa tudi ne.

#### Klon

OV-TL 12/30

#### Imunogen

Celična linija OTN 11 karcinoma jajčnikov.

#### Specifičnost

Protein intermediarnega filameta človeškega citokeratina 7.

#### Sestava reagenta

NCL-L-CK7-OVTL je tekočinski supernatant kulture tkiva, dobavljen v fiziološki raztopini s fosfatnim pufrom (pH 7,6) z 1 % govejega serumskega albumina kot nosilno beljakovino, ki vsebuje natrijev azid kot konzervans.

#### Razred Ig

IgG1, kapa.

#### Skupna koncentracija beljakovin

Total Protein

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

#### Koncentracija protitelesa

Višja ali enaka 67 mg/l, določena s testom ELISA. Za specifično koncentracijo Ig v seriji glejte oznako na viali.

#### Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

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

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

**Vizualizacija:** Upoštevajte navodila 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

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

#### Priprava vzorcev

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

#### Opozorila in previdnostni ukrepi

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

Ta reagent vsebuje natrijev azid. Varnostni list je na voljo na zahtevo ali na spletnem mestu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli 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 zdravniško pomoč.

Pazite, da ne pride do mikrobne okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.

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

morebitne spremembe.

## Kontrola kakovosti

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

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

## 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 s šibkim pozitivnim obarvanjem kot tkivo z močnim pozitivnim obarvanjem.<sup>2</sup>

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo endometrija.

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

## Negativni kontrolni vzorci tkiva

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

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

## Negativni kontrolni reagent

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

## Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-CK7-OVTL. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa odsotnosti antigena v testiranih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite nabor protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon OV-TL 12/30 zazna citokeratin 7 v citoplazmi številnih tipov epitelijskih celic, vključno s preprostimi, kompleksnimi in prehodnimi celicami, duktalnimi ter žleznim epitelijem. Konstantno obarvanje endometrija, pljučne alveole, žolčne vode v jetrih, kanale trebušne slinavke, ščitnico, distalne zavahane tubule in zbiralne kanale v ledvicah. Obarvanje je bilo opaženo tudi v duktih dojk in acinarnih celicah žlez slinavk. Neepitelijska tkiva, kot so gladka mišica, vezivno tkivo, limfatično tkivo in žile, so bila dosledno negativna (Skupno število ocenjenih normalnih tkiv = 98).

### Nenormalna tkiva

Klon OV-TL 12/30 je obarval 23/38 endometrioidnih adenokarcinomov, 30/41 adenokarcinomov trebuha, 29/30 seroznih adenokarcinomov jajčnika, 25/38 hepatocelularnih karcinomov jeter, 5/23 skvamoznih celičnih karcinomov grla, 2/3 skvamoznih celičnih karcinomov materničnega vratu, 4/13 skvamoznih celičnih karcinomov nosne in ustne votline, 5/5 mucijskih adenokarcinomov jajčnika, 3/3 adenokarcinomov jajčnika, 2/2 papilarnih karcinomov ščitnice, 3/3 adenokarcinomov trebušne slinavke, 3/3 adenokarcinomov pljuč, 5/5 adenokarcinomov žolčnika, 2/3 skvamoznih celičnih karcinomov požiralnika, 2/3 invazivnih duktalnih karcinomov dojk in 2/3 tranzicocelularnih karcinomov mehurja. Obarvanje ni bilo opaženo pri 0/2 adenokarcinomih prostate, 0/3 ledvičnih svetloceličnih karcinomih, 0/3 adenokarcinomih debelega črevesa in 0/3 astrocitomih (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 227).

**Izdelek NCL-L-CK7-OVTL se priporoča za zaznavanje človeške beljakovine citokeratin 7 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih 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 rzlago rezultatov obarvanja.

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

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

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

## **Splošna literatura**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

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

Sestava reagentov, Skupna koncentracija beljakovin, Priporočila za uporabo, Opozorila in previdnostni ukrepi, Pričakovani rezultati.

## **Datum izdaje**

15 april 2019



# Novocastra™ Tekutá myší monoklonální protilátka

## Cytokeratin 7

### Kód výrobku: NCL-L-CK7-OVTL

#### Zamýšlené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

Produkt NCL-L-CK7-OVTL je určen ke kvalitativnímu stanovení molekul Cytokeratin 7 světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinikou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfoloickým 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

OV-TL 12/30

#### Imunogen

Buněčná linie ovariaálního karcinomu OTN 11.

#### Specifita

Protein intermediálních filament lidského cytokeratinu 7.

#### Složení reagentie

NCL-L-CK7-OVTL je tekutý supernatant z tkáňové kultury ve fosfátem pufovaném fyziologickém roztoku (pH 7,6) s 1% boviním sérovým albuminem jako přenášejícím proteinem s azidem sodným jako konzervantem.

#### Třída Ig

IgG1, kappa

#### Koncentrace celkového proteinu

Total Protein

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

#### Koncentrace protilátek

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

#### Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

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

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

**Vizualizace:** Postupujte podle pokynů 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 navštivte web Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

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

#### Skladování a stabilita

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

#### Příprava vzorku

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

#### Varování a bezpečnostní opatření

Tato 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 vyžádání nebo na webu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.

Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály jim vystavenými, je nutno zacházet, jako by mohly způsobit přenos infekce, a likvidovat je s náležitými bezpečnostními opatřeními.<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 validovány.

## Kontrola jakosti

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

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

## Positivní tkáňová kontrola

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

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

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

Doporučenou pozitivní tkáňovou kontrolou je endometrium.

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

## Negativní tkáňová kontrola

Musi být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření 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 validovat.

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálním může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.<sup>3</sup> Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem 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 imunobarviva. K odlišení aktivity endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáňové pacienta vylučně 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 specificickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky.

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-CK7-OVTL. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon OV-TL 12/30 detekuje cytokeratin 7 v cytoplazmě velkého počtu typů epitelálních buněk, včetně jednoduchého, komplexního, přechodového, dukálního a glandulárního epitelu. Konzistentně barví endometrium, plicní alveoly, žlučodvy játra, pankreatické vývody, štítnou žlázu, distální stěbné kanálky a sběrné kanálky v ledvinách. Barvení bylo pozorováno také v duktech prsu a v acinárních buňkách slinných žláz. Neepitelální tkáň, například hladká svalovina, pojivová tkáň, lymfoidní tkáň a krevní cévy byly konzistentně negativní (celkový počet hodnocených normálních tkání = 98).

### Abnormální tkáň

Klon OV-TL 12/30 barvil 23/38 endometroidních adenokarcinomů, 30/41 adenokarcinomů žaludku, 29/30 serózních adenokarcinomů vaječnicku, 25/38 hepatocelulárních karcinomů jater, 5/23 dlaždicobuněčných karcinomů hrtnu, 2/3 dlaždicobuněčných karcinomů děložního hrdla, 4/13 dlaždicobuněčných karcinomů nosní a ústní dutiny, 5/5 mucinózních adenokarcinomů vaječnicků, 3/3 adenokarcinomů vaječnicků, 2/2 papilárních karcinomů štítné žlázy, 3/3 adenokarcinomů slinivky, 3/3 adenokarcinomů plic, 5/5 adenokarcinomů žlučníku, 2/3 dlaždicobuněčných karcinomů jícnu, 2/3 invazivních dukálních karcinomů prsu a 2/3 karcinomů z tranzičních buněk močového měchýře. Barvení nebylo pozorováno u 0/2 adenokarcinomů prostaty, 0/3 renálních světllobuněčných karcinomů, 0/3 adenokarcinomů tlustého stěva a 0/3 astrocytomů (celkový počet hodnocených abnormálních případů = 227).

**Produkt NCL-L-CK7-OVTL se doporučuje použít k detekci lidského proteinu cytokeratin 7 v normálních a neoplastických tkáních 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 imunohistochemického sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení. Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití, nebo přirozených odchylek ve tkáni.<sup>4</sup> Nadměrné nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit 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, jak bylo uvedeno, u zmrazených nebo u parafinových řezů se specifickými požadavky na fixaci. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoliv 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. Van de Molengraaf FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. *Histopathology*. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *Journal of Pathology*. 1991; 165(2):145–152.

## **Opravy předchozího vydání**

Složení reagentie, Koncentrace celkového proteinu, Doporučení k použití, Varování a bezpečnostní opatření, Očekávané výsledky.

## **Datum vydání**

15 duben 2019

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

## Cytokeratín 7

### Kód produktu: NCL-L-CK7-OVTL

#### Zamýšľané použitie

*Na diagnostické použitie in vitro.*

NCL-L-CK7-OVTL slúži na kvalitatívnu identifikáciu molekúl cytokeratínu 7 v parafínových rezoch pomocou svetelnej mikroskopie. Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

#### Princíp postupu

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

#### Klon

OV-TL 12/30

#### Imunogén

Bunková línia karcinómu vaječníkov OTN 11.

#### Špecificita

Proteín intermediárnych filamentov ľudského cytokeratínu 7.

#### Zloženie činidla

NCL-L-CK7-OVTL je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu prítomný vo fyziologickom roztoku chloridu sodného pufrovanom fosfátom (pH 7,6) s 1 % transportným proteínom bovinného sérového albumínu a obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

#### Trieda Ig

IgG1, kappa

#### Celková koncentrácia proteínov

Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

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

#### Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

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

**Odporúčané riedenie:** 1 : 50 po dobu 30 minút pri teplote 25 °C. Táto hodnota je orientačná a používatelia by si mali stanoviť svoje vlastné optimálne pracovné riedenia.

**Vizualizácia:** Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink™ Polymer Detection Systems (Polymérové detekčné systémy). 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)

Pri použití s inými manuálnymi systémami farbenia alebo automatizovanými platformami je nutné potvrdiť funkčnosť tejto protilátky.

#### Ukladenie a stabilita

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

#### Príprava vzorky

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

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

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

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

So vzorkami a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrní. Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidla 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/bioptické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formálnom a spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

## Positívna 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 činiteľa vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.<sup>2</sup>

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je endometrium.

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

## Negatívna kontrola tkanivom

Nutné vyšetrieť po pozitívnej kontrole tkanivom s cieľom overiť špecificitu 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 difúzny vzhľad. V rezoch tkanív silne fixovaných formálnom môže byť pozorované sporadické farbenie spojiva. Na interpretáciu výsledkov farbenia používajte intaktné bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbja nešpecificky.<sup>3</sup> Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj endogénnymi enzýmami, ako napr. pseudoperoxidázou (erytrocyty), endogénnou peroxidázou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeň, 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 činiteľom

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

## Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené prípravkom NCL-L-CK7-OVTL preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného

nešpecifického zafarbenia negatívnej kontroly činiteľom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testoch znamená negatívny výsledok, že antigén alebo detekovaný. Nepotvrzuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon OV-TL 12/30 deteguje cytokeratín 7 v cytoplazme veľkého počtu typov epiteliálnych buniek vrátane jednoduchého, komplexného, prechodného, dukálneho a žľazového epitelu. Konzistentne farbí endometrium, pľúčne alveoly, žľazovody v pečeni, pankreatické vývody, štítnu žľazu, distálne stočené kanáliky a zberné kanáliky v obličkách. Zafarbenie bolo takisto pozorované v mliekovodoch prsníka a v acinárnych bunkách slinných žliaz. Neepitelizované tkanivá, napríklad hladké svalstvo, spojivové tkanivo, lymfoidné tkanivo a krvné cievy, boli konzistentne negatívne (celkový počet normálnych vyšetrených tkanív = 98).

### Abnormálne tkanivá

Klon OV-TL 12/30 zafarbil 23/38 adenokarcinómov endometria, 30/41 adenokarcinómov žalúdka, 29/30 serózných adenokarcinómov ovária, 25/38 hepatocelulárnych karcinómov pečene, 5/23 dlaždicovobunkových karcinómov hrtna, 2/3 dlaždicovobunkových karcinómov krčka maternice, 4/13 dlaždicovobunkových karcinómov nazálnych a ústnych dutín, 5/5 mucinózných adenokarcinómov ovária, 3/3 adenokarcinómov ovária, 2/2 papilárnych karcinómov štítnej žľazy, 3/3 adenokarcinómov pankreasu, 3/3 adenokarcinómov pľúc, 5/5 adenokarcinómov žľazníka, 2/3 dlaždicovobunkových karcinómov pažeráka, 2/3 invazívnych dukálnych karcinómov prsníka a 2/3 karcinómov močového mechúra z prechodných buniek. Nebolo pozorované žiadne zafarbenie 0/2 adenokarcinómov prostaty, 0/3 renálnych svetlobunkových karcinómov, 0/3 adenokarcinómov hrubého čreva a 0/3 astrocytómov (celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 227).

**Prípravok NCL-L-CK7-OVTL sa odporúča na detekciu proteínu ľudského cytokeratínu 7 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie použitím neimunologických histochemických farbení.**

## Všeobecné limitácie

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

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

Prtilátky 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

### **Úpravy predchádzajúceho vydania**

Zloženie činidla, Celková koncentrácia proteínu, Odporúčania na použitie, Varovania a bezpečnostné opatrenia, Pozitívna kontrola tkanivom, Očakávané výsledky.

### **Dátum vydania**

15 apríl 2019

# Novocastra™ جسم مضاد أحادي النسيلة سائل لدى الفرنان Cytokeratin 7

## رمز المنتج: NCL-L-CK7-OVTL

### الإستعمال المستهدف

مخصص للإستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.

NCL-L-CK7-OVTL مصمم من أجل التحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لجزيئات السايٲوكيراتين 7 في مقاطع البارافين. ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوٲيح أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والضوابط الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

### مبدأ الإجراء

تسمح تقنيات التلوٲين الكيميائي المناعي (IHC) بتصور المستضدات عبر التلوٲيق المتسلسل لجسم مضاد معين إلى المستضد (الجسم المضاد الأولي)، وهو جسم مضاد ثانوي للجسم المضاد الأولي ومجموع إنزيم مع ركازة مؤلدة للون مع خطوات غسل متداخلة. ينتج التنشيط الإنزيمي للكروموجين مؤلدة اللون منتج تفاعل مرئي في موقع المستضد. ومن ثم يمكن بعدها استخدام صبغة ملوونة شبيهة للعينة وتلوٲيتها بواقفة زجاجية على شريحة مجهر. يتم تفسير النتائج باستخدام المجهر الضوئي والمساعدة في التشخيص التفريقي للمخيمات الفيزيولوجية المرضية، والتي قد ترتبط أو لا ترتبط بمستضد معين.

### مستنسخ

OV-TL 12/30

### مستضد

خط خلية سرطان المبيض OTN 11.

### خصوصية

بروتين الشعيرة المتوسطة بالسايٲوكيراتين البشري 7

### تكوين الكاشف

NCL-L-CK7-OVTL عبارة عن مادة سائلة طافية لزراعة الأنسجة، مقدمة في محلول ملحي فوسفاتي حمي (درجة حموضة 7.6) مع 1% بروتين حامل الألبومين مصل بقر ي يحتوي على أزيد الصوديوم كمادة حافظة.

### فئة الغلوبولين المناعي

IgG1, kappa

### تركيز البروتين الكلي

راجع ملصق تسمية القارورة لتشعيرة محددة من تركيز البروتين الكلي.

### تركيز الجسم المضاد

أكثر من أو يساوي 67 مج/لتر حسبما تحدد مقايسة المتمز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA). راجع ملصق تسمية القارورة لنعمة محددة من تركيز الغلوبولين المناعي.

### توصيات حول الإستخدام

تقنية الكيمياء النسيجية المناعية على مقاطع البارافين.

استرجاع الحنطة المثل بالحرارة (HIER): يُرجى اتباع التعليمات لاستخدامها في محلول استرجاع الحنطة ذي الأس الهيدروجيني 6 من Novocastra .  
التخفيف المقترح: 1:50 ص لمدة 30 دقيقة في 25° مئوية. يتم توفير هذا كدليل ويجب على المستخدمين تحديد التخفيفات المثالية للعمل الخاصة بهم.

التصور: يُرجى اتباع التعليمات لاستخدامها في أنظمة الكشف عن البوليمر Novolink™. لمزيد من المعلومات أو الدعم عن المنتج، اتصل بالموزع المحلي أو المكتب الإقليمي لشركة Leica Biosystems ،  
www.LeicaBiosystems.com

يجب التحقق من صحة أداء هذا الجسم المضاد عند استخدامه مع أنظمة التلوٲيح الجيوية أو المنصات الآلية الأخرى.

### التخزين والإستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. يجب عدم تجميده أهد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الإستعمال مباشرة. لا يُستعمل بعد تاريخ انتهاء الصلاحية المدون على ملصق الزجاجية. يجب التحقق من ظروف التخزين بعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه.

### إعداد العينة

المثبت الموصى به هو الفورمالين المحمي المحايد 10% لمقاطع الأنسجة المنجدة في البارافين.

### تحذيرات واحتياطات

تم إعداد هذا الكاشف من المادة السائلة الطافية من مزرعة الخلية. بما أنه منتج بيولوجي، يجب توخي الحذر عند التعامل معه.

يحتوي هذا الكاشف على أزيد الصوديوم. تتوفر ورقة بيانات سلامة المواد عند الطلب أو متوفرة من [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

راجع الأنظمة النويدالية أو الخاصة بالوالاية أو المحلية بشأن التخلص من أي مكونات قد تكون سامة.

ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة. لا تقم باستخدام الكواشف أبدًا في الأنيوب الماصة عن طريق القم وتجنب ملامسة الكواشف والعيينات للجلد والأغشية المخاطية. إذا كانت الكواشف أو العينات تحتك بمناطق حساسة، فغسلك بغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء اطلب المشورة الطبية.

قلل التلوث الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلوٲيح غير المحدد.

قد تؤدي أوقات الحضانة أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أي تغيير كبيرًا من جانب المستخدم.

### ضبط الجودة

قد تؤدي الاختلافات في معالجة الأنسجة والإجراءات التقنية في مختبر المستخدم إلى حدوث تباين كبير في النتائج، مما يتطلب الأداء المنتظم للضوابط الداخلية بالإضافة إلى الإجراءات التالية. يجب أن تكون ضوابط عينات تشرح / خزعة / جراحية جديدة، ومثبتة بالفورمالين، ومعالجة، ومضمنة في شمع البارافين في أسرع وقت ممكن بنفس الطريقة مثل عينة (عينات) المريض.

## ضابط النسيج الإيجابي

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

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

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

ضابط النسيج الإيجابي الموصى به هو بطاقة الرحم.

إذا فشل ضابط النسيج الإيجابي في إظهار التلطيح الإيجابي، فينبغي اعتبار نتائج عينات الاختبار غير صحيحة.

## ضابط النسيج السليبي

ينبغي فحصه بعد ضابط النسيج الإيجابي للتحقق من خصوصية وضع تسميات وعلامات للمستضد المستهدف عن طريق الأجسام المضادة الأولية.

ضابط النسيج الإيجابي الموصى به هو المخيخ.

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

المستخدم.

إن التلطيح غير المحدد، إن وجد، عادةً ما يكون له مظهر منتثر. كما يمكن ملاحظة تلطيح متقطع للنسيج الضام في مقاطع من الأنسجة المثبتة بالفورمالين بإفراط استخدام الخلايا السليمة لتفسير نتائج التلطيح. غالباً ما تصنع الخلايا الميتة أو المحللة بشكل غير محدد<sup>3</sup> ويمكن رؤية النتائج الإيجابية الكاذبة بسبب الارتباط غير المناعي للبروتينات أو منتجات تفاعل الركيزة. قد تحدث أيضاً بسبب الإزيمات داخلية مثل البيروكسيداز الزائف (كريات الدم الحمراء)، أو البيروكسيداز ذاتي المنشأ

(السيروتوروم سي)، أو البيوتين ذاتي المنشأ (مثل الكبد، الثدي، المخ، الكلى) اعتماداً على نوع الصبغ المناعي المستخدم. للتمييز بين نشاط إنزيم ذاتي المنشأ أو ارتباط غير محدد من الإزيمات من نوع معين من التفاعلية المناعية، قد يتم تلطخ أنسجة المريض الإضافية بشكل حصري بمركبات الركيزة أو كروموجين الركيزة (أفيدين-البيوتين، سترينبتايفين، البوليمر الموسوم) و كروموجين الركيزة، على التوالي. إذا حدث تلوث محدد في ضابط النسيج السليبي، يجب اعتبار نتائج عينات المرضى غير صالحة.

## ضابط الكاشف السليبي

استخدم ضابط كاشف سلبى بدلاً من الأجسام المضادة الأولية مع قطاع من كل عينة من المرضى لتقييم التلطيح غير المحدد والسماح بتفسير التلطيح المحدد في موقع الجسم المضاد بشكل أفضل.

## نسيج المريض

فحص عينات المرضى الملطخة بـ NCL-L-CK7-OVTL في النهاية. ينبغي تقييم كثافة التلطيح الإيجابي في سياق أي تلطيح غير محدد بتلطيخ الخلفية لضابط الكاشف السليبي. كما هو الحال مع أي اختبار كيميائي هيستولوجي مناعي، فإن النتيجة السلبية تعني أن المستضد قد لم يتم اكتشافه، وليس أن المستضد غير موجود في الخلايا/الأنسجة التي تمت معالجتها. إذا لزم الأمر، استخدم لوحة من الأجسام المضادة لتحديد التفاعلات السلبية الكاذبة.

## النتائج المتوقعة

### الأنسجة الطبيعية

الأنسجة الطبيعية: المستنسخ OV-TL 12/30 يكتشف السيروتورين 7 في السيتوبلازما وغشاء عدد كبير من أنواع الخلايا الظهارية؛ البسيطة، والمعقدة، والانتقالية، بما في ذلك القناة الغدية والظهارية. وهو يلاحظ بشكل منتظم بطاقة الرحم، والحويصلات الهوائية بالرئة، والقنوات الصفراوية في الكبد، وظهارة العصبونات، والغدة الدرقية، والأغيبب المتلوية البعيدة، وجمع قنوات الكلى. كما أمكن رؤية تلطيح أيضاً في قنوات الثدي وفي الخلايا الغشائية بالعدد المعايير. كانت الأنسجة غير الظهارية، مثل العضلات الملساء، والنسيج الضام، والأنسجة الليفاوية والأوعية الدموية سلبية على النوام (العدد الإجمالي للأنسجة الطبيعية = 98).

### الأنسجة الورمية

الأنسجة الورمية: المستنسخ OV-TL 12/30 لطح 23/38 ورم سرطاني غدي ببطانة الرحم، 30/41 ورم سرطاني غدي بالمعدة، 29/30 ورم سرطاني غدي مصلي بالبيض، 25/38 ورم سرطاني غدي بالخلايا الكبدية، 5/23 سرطان الخلايا الحرشفية بالحنجرة، 2/3 سرطان الخلايا الحرشفية في عنق الرحم، 4/13 سرطان الخلايا الحرشفية بالتجويف الأنفية والقوقبية، 5/5 ورم سرطاني غدي مخاطي بالبيض، 3/3 ورم سرطاني غدي بالبيض، 2/2 ورم سرطاني حليمي بالغدة الدرقية، 3/3 ورم سرطاني غدي بالبنكرياس، 3/3 ورم سرطاني غدي بالرئة، 5/5 ورم سرطاني غدي بالمرارة، 2/3 سرطان الخلايا الحرشفية في المريء، 2/3 سرطان الأقيية الغازية للثدي، و3/3 سرطان الخلايا الانتقالية بالمثانة. لم يلاحظ أي تلطيح في 0/2 ورم سرطاني غدي بالبروستاتا، 0/3 سرطان الخلايا الكلوية الصاقية، 0/3 ورم سرطاني غدي بالقولون، 0/3 سرطان الخلايا النجمية (إجمالي عدد الحالات الورمية التي تم تقييمها = 227).

**يوصى باستخدام NCL-L-CK7-OVTL في الكشف عن بروتين سياتوكيراتين 7 (بشري في الأنسجة العادية والورمية، كعامل مساعد لعلم أمراض الأنسجة التقليدي باستخدام تلطيخ نسيجي كيميائي غير مناعي.**

## القيود العامة

الكيمياء الهيستولوجية المناعية هي عملية تشخيصية متعددة الخطوات تتكون من تدريب متخصص في اختبار الكواشف المناسبة؛ واختيار الأنسجة، والتثبيت، والمعالجة؛ وإعداد شريحة IHC؛ وتفسير نتائج التلطيح.

يعتمد تلطيخ الأنسجة على معالجة وتجهيز الأنسجة قبل التلطيح. قد يؤدي التثبيت، أو التجميد، أو الذوبان، أو الغسيل، أو التجفيف، أو التسخين، أو التقسيم غير السليم أو التلوث مع الأنسجة أو السوائل الأخرى إلى نتائج ضعفي، أو احتجاز المستضدات، أو نتائج سلبية كاذبة. قد تكون النتائج غير المتسلسلة بسبب الاختلافات في أساليب التثبيت والدمج، أو إلى عيوب كامنة داخل الأنسجة<sup>4</sup>.

قد يؤثر التلطيح الغائب المفرط أو غير المكتمل على التفسير الصحيح للنتائج.

ينبغي أن يستكمل التفسير السريري لوجود أي تلطيخ أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والضوابط الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي تجربها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

الأجسام المضادة من Leica Biosystems Newcastle Ltd مصممة للاستخدام، كما هو محدد، على القطاعات المجمدة أو المثبتة بالبارافين مع متطلبات تثبيت محددة. قد يحدث تعبير مستضد غير متوقع، وخاصة في الأورام. يجب أن يشمل التفسير السريري لأي مقطع نسيج ملطخ التحليل المورفولوجي وتقييم الضوابط المناسبة.



1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, 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. Van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, et al. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 1993; 22:35–38.
6. van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, et al. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. Journal of Pathology. 1991; 165(2):145–152.

#### تعديلات على الإصدار السابق

تركيب الكاشف، تركيز البروتين الكلي، توصيات حول الاستخدام، التحذيرات والاحتياطات، النتائج المتوقعة.

#### تاريخ الإصدار

15 أبريل 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