

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Epidermal Growth Factor Receptor

**Product Code: NCL-L-EGFR**

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 Epidermal Growth Factor Receptor

## Product Code: NCL-L-EGFR

### Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

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

### Principle of Procedure

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

### Clone

EGFR.113

### Immunogen

Prokaryotic fusion protein corresponding to the external domain of the epidermal growth factor receptor molecule.

### Specificity

External domain of the human epidermal growth factor receptor.

### Reagent Composition

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

### Ig Class

IgG2a

### Total Protein Concentration

Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

### Antibody Concentration

Greater than or equal to 26 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:** 1:20 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 placenta.

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-EGFR 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 EGFR.113 detected the epidermal growth factor receptor antigen on the cell surface in a variety of normal tissues. Strong membrane staining was found in the basal cells of skin epidermis and in the squamous epithelium of cervix. In the skin, sebaceous glands were also positive. Immunostaining was observed in the pseudostratified epithelium in the bronchus, thymocytes and Hassall's corpuscles in the thymus and epithelium in the esophagus. Staining was also observed in the gastrointestinal tract epithelium, hepatocytes in the liver and tubules in the kidney. Endometrial glands were also positive (Total number of normal tissues evaluated= 96).

### Abnormal Tissues

Clone EGFR.113 stained 3/3 squamous cell carcinomas of the esophagus, 2/5 adenocarcinomas of the gallbladder, 2/3 adenocarcinomas of the lung, 2/3 transitional cell carcinomas of the bladder, 1/2 papillary carcinomas of the thyroid and 3/3 squamous cell carcinomas of the cervix. No staining was seen in 0/3 astrocytomas, 0/3 adenocarcinomas of the colon, 2/3 renal clear cell carcinomas, 0/3 adenocarcinomas of the pancreas, 0/2 adenocarcinomas of the prostate, 0/3 adenocarcinomas of the stomach, and 0/3 ductal carcinomas of the breast (Total number of abnormal cases evaluated 39).

**NCL-L-EGFR is recommended for the detection of human epidermal growth factor receptor 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

## **Amendments to Previous Issue**

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

## **Date of Issue**

02 May 2019

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal liquide de Souris

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Référence du Produit: NCL-L-EGFR

#### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

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

#### Principe de la Procédure

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

#### Clone

EGFR.113

#### Immunogène

Protéine procaryote de fusion correspondant au domaine externe de la molécule du récepteur du facteur de croissance épidermique.

#### Spécificité

Domaine externe du récepteur du facteur de croissance épidermique humain.

#### Composition du Réactif

NCL-L-EGFR est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azote de sodium comme conservateur.

#### Classe d'Ig

IgG2a

#### 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 26 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** : 1:20 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 surnageant d'une culture cellulaire. Du fait de sa nature de produit biologique, sa manipulation doit faire l'objet du plus grand soin.

Ce réactif contient de l'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 la placenta.

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

## Tissu de Contrôle Négatif

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

Le cervelet constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

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

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

## Réactif de Contrôle Négatif

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

## Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-EGFR 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 EGFR.113 a détecté l'antigène récepteur du facteur de croissance épidermique sur la surface des cellules de tissus normaux.

Une forte coloration membranaire a été observée dans les cellules basales de l'épiderme et dans l'épithélium squameux du col de l'utérus. Au niveau de la peau, les glandes sébacées étaient également positives. Une immunocoloration a été observée dans l'épithélium pseudostratifié des bronches, les thymocytes et les corpuscules de Hassall dans le thymus et l'épithélium de l'œsophage. Une coloration a également été observée dans l'épithélium du tube digestif, les hépatocytes du foie et les tubules du rein. Les glandes de l'endomètre étaient également positives (nombre total de tissus normaux évalués = 96).

### Tissus tumoraux

Le clone EGFR.113 a coloré 3/3 carcinomes à cellules squameuses de l'œsophage, 2/5 adénocarcinomes de la vésicule biliaire, 2/3 adénocarcinomes du poulmon, 2/3 carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie, 1/2 carcinomes papillaires de la thyroïde et 3/3 carcinomes à cellules squameuses du col de l'utérus. Aucune coloration n'a été observée dans 0/3 astrocytomes, 0/3 adénocarcinomes du colon, 2/3 carcinomes du rein à cellules claires, 0/3 adénocarcinomes du pancréas, 0/2 adénocarcinomes de la prostate, 0/3 adénocarcinomes de l'estomac et 0/3 carcinomes canalaire du sein (nombre total de cas anormaux = 39).

**NCL-L-EGFR est recommandé pour la détection de la protéine récepteur du facteur de croissance épidermique dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément de l'histopathologie conventionnelle à base de colorations 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

## Amendements Apportés à la Version Précédente

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

## Date de Publication

02 mai 2019



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Codice Del Prodotto: NCL-L-EGFR

#### Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

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

#### Principio Della Procedura

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

#### Clone

EGFR.113

#### Immunogeno

Proteina di fusione ricombinante, corrispondente al dominio esterno della molecola del recettore del fattore di crescita epidermica.

#### Specificità

Dominio esterno del recettore del fattore di crescita epidermica umano.

#### Composizione Del Reagente

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

#### Classe Ig

IgG2a

#### Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

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

#### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 26 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 termindotto dell'epitopo (HIER):** si raccomanda di seguire le istruzioni per l'uso di Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Diluizione consigliata:** 1:20 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 azzuro 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. 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 la placenta.

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 cervelletto.

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

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

## Controllo Negativo Del Reagente

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

## Tessuto Del Paziente

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

## Risultati Attesi

### Tessuti normali

Il clone EGFR.113 ha rilevato il recettore del fattore di crescita epidermico sulla superficie cellulare di svariati tessuti normali. È stata riscontrata forte colorazione della membrana nelle cellule basali dell'epidermide e nell'epitelio squamoso della cervice. Nella pelle, le ghiandole sebacee erano altresì positive. È stata osservata immunocolorazione nell'epitelio pseudostratificato dei bronchi, nei timociti e nei corpuscoli di Hassal del timo e nell'epitelio esofageo. È stata inoltre osservata colorazione nell'epitelio del tratto gastrointestinale, negli epatociti del fegato e nei tubuli renali. Le ghiandole endometriali erano altresì positive (numero totale di tessuti normali esaminati = 96).

### Tessuti tumorali

Il clone EGFR.113 ha colorato 3 di 3 carcinomi a cellule squamose dell'esofago, 2 di 5 adenocarcinomi della cistifellea, 2 di 3 adenocarcinomi del polmone, 2 di 3 carcinomi a cellule transizionali della vescica, 1 di 2 carcinomi papillari della tiroide e 3 di 3 carcinomi a cellule squamose della cervice. Nessuna colorazione è stata osservata in 0 di 3 astrocitomi, 0 di 3 adenocarcinomi del colon, 2 di 3 carcinomi a cellule chiare del rene, 0 di 3 adenocarcinomi del pancreas, 0 di 2 adenocarcinomi della prostata, 0 di 3 adenocarcinomi dello stomaco e 0 di 3 carcinomi duttali della mammella (numero totale di casi anomali esaminati = 39).

**L'uso di NCL-L-EGFR è consigliato per il rilevamento del recettore del fattore di crescita epidermico umano nei tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.**

## Limitazioni Generali

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

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

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

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

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

### **Riferimenti Bibliografici Di Base**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

### **Modifiche Alla Pubblicazione Precedente**

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

### **Data Di Pubblicazione**

02 maggio 2019

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Produkt-Nr.: NCL-L-EGFR

#### Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

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

#### Verfahrensgrundlage

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

#### Klon

EGFR.113

#### Immunogen

Prokaryotisches Fusionsprotein, das der externen Domäne des epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor-Moleküls entspricht.

#### Spezifität

Externe Domäne des humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors.

#### Reagenzzusammensetzung

NCL-L-EGFR ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

#### Ig-Klasse

IgG2a

#### Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Chargenspezifische Gesamtproteinkonzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

#### Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 26 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:** 1:20 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 Gewebeparbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu signifikanten Schwankungen bei den Ergebnissen führen. Daher ist es wichtig, zusätzlich zu den folgenden Verfahren regelmäßige laborinterne Kontrollen durchzuführen.

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

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Für die positive Gewebekontrolle wird Plazentagewebe 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-EGFR 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 EGFR.113 erkannte das epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor-Antigen auf der Zelloberfläche bei verschiedenen normalen Gewebeproben. Es wurde eine starke Membranfärbung in den basalen Epithelzellen der Haut und im Plattenepithel des Gebärmutterhalses festgestellt. In der Haut waren auch die Talgdrüsen positiv. Immunfärbung wurde im pseudostratifizierten Epithel in den Bronchien, Thymozyten und Hassall-Körperchen im Thymus und Epithel in der Speiseröhre beobachtet. Verfärbung wurde ebenfalls im Magen-Darm-Traktepithel, in Hepatozyten in der Leber und in Tubuli in den Nieren festgestellt. Endometriale Drüsen waren ebenfalls positiv (Anzahl der insgesamt untersuchten normalen Gewebeproben = 96).

#### Tumorgewebe

Der Klon EGFR.113 führte zur Verfärbung bei 3/3 Plattenepithelkarzinomen der Speiseröhre, 2/5 Adenokarzinomen der Gallenblase, 2/3 Adenokarzinomen der Lunge, 2/3 Übergangsepithelkarzinomen der Blase, 1/2 papillären Karzinomen der Schilddrüse und 3/3 Plattenepithelkarzinomen des Gebärmutterhalses. Es wurde keine Verfärbung in 0/3 Astrozytomen, 0/3 Adenokarzinomen des Darms, 2/3 klarzelligen Nierenkarzinomen, 0/3 Adenokarzinomen der Bauchspeicheldrüse, 0/2 Adenokarzinomen der Prostata, 0/3 Adenokarzinomen des Magens, 0/3 Duktalkarzinomen der Brust festgestellt (Anzahl der insgesamt untersuchten abnormalen Gewebeproben = 39).

**NCL-L-EGFR wird für den Nachweis von humanem epidermalem Wachstumsfaktor-Rezeptor-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.**

## Allgemeine Beschränkungen

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

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

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

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

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

## Literatur - Allgemein

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplach S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

## Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

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

## Ausgabedatum

02 Mai 2019

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal líquidos de Ratón

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Código De Producto: NCL-L-EGFR

#### Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

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

#### Principio Del Procedimiento

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

#### Clon

EGFR.113

#### Inmunógeno

Proteína de fusión procarcinógena correspondiente al dominio externo de la molécula de receptor del factor de crecimiento epidérmico.

#### Especificidad

Dominio externo del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano.

#### Composición Del Reactivo

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

#### Clase de Ig

IgG2a

#### Concentración Total De Proteína Total Protein

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

#### Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 26 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:** 1:20 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 el de placenta.

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

### Control Tisular Negativo

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

El tejido de control negativo recomendado es cerebello.

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

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.<sup>3</sup> También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad 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-EGFR 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 EGFR.113 detectó el antígeno del receptor del factor de crecimiento epidérmico en la superficie celular en diversos tejidos normales. Se encontró una fuerte tinción de la membrana en las células basales de la epidermis cutánea y en el epitelio escamoso del cuello uterino. En la piel, las glándulas sebáceas también fueron positivas. Se observó inmunotinción en el epitelio pseudoestratificado de los bronquios, los timocitos y corpúsculos de Hassall en el timo y el epitelio esofágico. También se observó tinción en el epitelio del tracto gastrointestinal, los hepatocitos del hígado y los túbulos renales. Las glándulas del endometrio también fueron positivas (número total de tejidos sanos evaluados = 96).

#### Tejidos tumorales

El clon EGFR.113 produjo tinción en 3/3 carcinomas de células escamosas del esófago, 2/5 adenocarcinomas de la vesícula biliar, 2/3 adenocarcinomas pulmonares, 2/3 carcinomas de célula de transición de la vejiga, 1/2 carcinomas papilares de la tiroides y 3/3 carcinomas de células escamosas del cuello uterino. No se observó tinción en 0/3 astrocitomas, 0/3 adenocarcinomas del colon, 2/3 carcinomas renales de célula clara, 0/3 adenocarcinomas del páncreas, 0/2 adenocarcinomas de la próstata, 0/3 adenocarcinomas estomacales y 0/3 carcinomas ductales de la mama (número total de casos anómalos evaluados = 39).

**NCL-L-EGFR está recomendado para la detección de la proteína del receptor epidérmico del factor del crecimiento humano 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. 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

## Correcciones A La Publicación Anterior

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

## Fecha De Publicación

02 de mayo de 2019

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal líquido de Ratinho

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Código Do Produto: NCL-L-EGFR

#### Utilização prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

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

#### Princípio Do Procedimento

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

#### Clone

EGFR.113

#### Imunogénio

Proteína de fusão procariótica correspondendo ao domínio externo da molécula do receptor do factor de crescimento epidérmico.

#### Especificidade

Domínio externo do receptor do factor de crescimento epidérmico humano.

#### Composição Do Reagente

NCL-L-EGFR é um sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo azida de sódio como produto conservante.

#### Classe De Ig

IgG2a

#### 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 26 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:** 1:20 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 infecções e devem ser descartados com as devidas precauções.<sup>1</sup> Não pipetar nunca os reagentes com a boca e evitar o contacto entre a pele e membranas mucosas e os reagentes e amostras. Caso os reagentes ou amostras entrem em contacto com áreas sensíveis, lavar com grandes quantidades de água. Consultar um médico.

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

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

### **Controlo Da Qualidade**

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

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

### **Controlo De Tecido Positivo**

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

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

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

O tecido de controlo positivo recomendado é a placenta.

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-EGFR 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 EGFR.113 detetou o antígeno do recetor do fator de crescimento da epiderme na superfície das células em vários tecidos normais. Detetou-se uma forte coloração da membrana nas células basais da epiderme da pele e no epitélio escamoso do colo do útero. Na pele, o resultado para glândulas sebáceas foi igualmente positivo. Observou-se imunocoloração no epitélio pseudo-estratificado no brônquio, timócitos e corpúsculos de Hassall no timo e no epitélio no esófago. Observou-se igualmente coloração no epitélio no trato gastrointestinal, hepatócitos no fígado e túbulos no rim. O resultado para glândulas endometriais também foi positivo (número total de tecidos normais avaliados = 96).

#### Tecidos tumorais

O clone EGFR.113 corou 3/3 carcinomas das células escamosas do esófago, 2/5 adenocarcinomas da vesícula biliar, 2/3 adenocarcinomas do pulmão, 2/3 carcinomas de células de transição da bexiga, 1/2 carcinomas papilares da tireoide e 3/3 carcinomas das células escamosas do colo do útero. Não se observou coloração em 0/3 astrocitomas, 0/3 adenocarcinomas do cólon, 2/3 carcinomas das células claras renais, 0/3 adenocarcinomas do pâncreas, 0/2 adenocarcinomas da próstata, 0/3 adenocarcinomas do estômago e 0/3 carcinomas ductais da mama (número total de casos anormais avaliados = 39).

**NCL-L-EGFR é recomendado para deteção da proteína do recetor de fator de crescimento da epiderme 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

## Emendas Da Edição Anterior

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

## Data De Emissão

02 de Maio de 2019

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Produktkod: NCL-L-EGFR

#### Avsedd Användning

*För in vitro diagnostisk användning.*

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

#### Metodens Princip

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

#### Klon

EGFR.113

#### Immunogen

Prokaryotiskt fusionsprotein som motsvarar den externa domänen av den epidermala tillväxtfaktor receptor molekylen.

#### Specifitet

Extern domän av den humana epidermala tillväxtfaktor receptorn.

#### Reagensinnehåll

NCL-L-EGFR är en flytande vävnadskultursupernatant med natriumazid som konserveringsmedel.

#### Ig-klass

IgG2a

#### Total Proteinkoncentration Total Protein

Se flaskans etikett för specifik, total proteinkoncentration.

#### Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 26 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:** 1:20 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 ovannämnda måste kontrolleras av användaren.

#### Preparation Av Prover

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### Varningar Och Försiktighetsåtgärder

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

Detta reagens innehåller natriumazid. Ett datablad för materialsäkerhet finns tillgängligt på begäran eller från [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com). För kasserung av potentiellt toxiska komponenter hänvisas till nationella eller lokala bestämmelser.

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

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

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

## Kvalitetskontroll

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

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

## Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

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

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

Placenta 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 peroxid (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på typ av immunfärgning som används. För att skilja endogen enzymaktivitet eller ospecifik enzymbindning från specifik immunreaktivitet kan ytterligare patientvävnader färgas exklusivt med respektive substratkromogen eller enzymkomplex (avidin-biotin, streptavidin, märkt polymer) och substrat-kromogen. Om specifik färgning sker i den negativa vävnadskontrollen bör resultat med patientprover anses vara ogiltiga.

## Negativ Reagenskontroll

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

## Patientvävnad

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

## Förväntade Resultat

### Normal vävnad

Klon EGFR.113 detekterade den epidermala tillväxtfaktorreceptorantigenen på celltan hos en mängd olika normala vävnader. Stark membranfärgning påträffades i basalcellerna i hudens epidermis och i skivepitelet i cervix. I huden var talgkörtlar också positiva. Immunfärgning observerades i det pseudostratifierade epitelet i bronker, tymocyter och Hassalls kroppar i tymus och epitel i matstrupen. Färgning observerades också i epitel i mag-tarmkanalen, hepatocyter i levern och tubuli i njuren. Endometriala körtlar var också positiva (totalt antal normala vävnader som utvärderas = 96).

### Tumörvävnader

Klon EGFR.113 färgade 3/3 skivepitelcarcinom i matstrupen, 2/5 adenocarcinom i gallblåsan, 2/3 adenocarcinom i lunga, 2/3 övergångscellcarcinom i urinblåsan, 1/2 papillära carcinom i sköldkörteln och 3/3 skivepitelcarcinom i cervix. Ingen färgning sågs i 0/3 astrocytom, 0/3 adenocarcinom i kolon, 2/3 klarcellscarcinom, 0/3 adenocarcinom i pankreas, 0/2 adenocarcinom i prostata, 0/3 adenocarcinom i magen, och 0/3 dukttala carcinom i bröst (totalt antal onormala fall som utvärderades = 39).

**NCL-L-EGFR rekommenderas för detektion av humant, epidermalt tillväxtfaktorreceptorprotein i normala och neoplastiska vävnader, som ett 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>

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

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patologi 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. Öväntat 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

### **Rättelser Av Tidigare Utgivning**

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

### **Utgivningsdatum**

02 maj 2019

# Novocastra™ Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Κωδικός είδους: NCL-L-EGFR

#### Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

*Gia in vitro διαγνωστική χρήση.*

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

#### Αρχή Της Διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωταγές 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

EGFR.113

#### Ανοσογόνο

Προκαρμωπική πρωτεΐνη σύντηξης που αντιστοιχεί στην εξωτερική περιοχή του μορίου του υποδοχέα παράγοντα ανάπτυξης επιδερμίδας.

#### Ειδικότητα

Εξωτερική περιοχή του ανθρώπινου υποδοχέα παράγοντα ανάπτυξης επιδερμίδας.

#### Σύνθεση Αντιδραστήριου

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

#### Τάξη Ig

IgG2a

#### 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 26 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

#### Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε 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 αραίωση:** 1:20 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 πιπέτα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή του γιατρού.



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

## Ποιοτικός Έλεγχος

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

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

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

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

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

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

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι ο πλακούνας.

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 επίσημανσης του αντιγόνου-στόχου από το πρωτοπαγές αντισώμα.

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 αποραδική χρώση του συνδεδεμένου ιστού σε τομές 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 ψευδοπυροξειδάση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπεροξειδάση (κυτόχρωμα C) ή η ενδογενής βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο ανοσοχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμευσης των ενζύμων από ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστού ασθενούς με χρωμογόνο υποστρώματος ή ενζυμικό σύμπλοκο (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα. Εάν παρουσιαστεί ειδική χρώση στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενούς θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

## Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστηρίου

Χρησιμοποιείτε έναν μη ειδικό αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου αντί του πρωτοπαγούς 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-EGFR. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχών μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστηρίου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί Ιστοί

Με τον κλώνο EGFR.113 ανιχνεύεται το αντιγόνο του υποδοχέα παράγοντα ανάπτυξης επιδερμίδας στην κυτταρική επιφάνεια σε Ο κλώνος EGFR.113 ανίχνευσε το αντιγόνο του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα στην επιφάνεια κυττάρων σε διάφορους φυσιολογικούς ιστούς. Παρατηρήθηκε έντονη χρώση της μεμβράνης στις βασικές σπιδάδες της επιδερμίδας και στο πλακώδες επιθήλιο του τραχήλου της μήτρας. Στο δέρμα, διάφοροι σηματογόνοι αδένες ήταν επίσης θετικοί. Ανοσοχρώση παρατηρήθηκε στο ψευδοστρωματιοποιημένο επιθήλιο του βρόγχου, στα θυμocyτταρα και στα σωματίδια του Hassall στον θύμο και στο επιθήλιο του οισοφάγου. Χρώση παρατηρήθηκε επίσης στη γαστροεντερική διόδο του επιθήλιου, στα ηπατοκύτταρα στο σπυκνί και στα σωληνάρια του νεφρού. Κάποιοι ενδομήτριοι αδένες ήταν επίσης θετικοί (Συνολικός αριθμός αξιολογηθέντων φυσιολογικών ιστών= 96).

### Καρκινικοί Ιστοί

Ο κλώνος EGFR.113 προκάλεσε χρώση σε 3/3 των πλακωδών κυττάρων των καρκινωμάτων του οισοφάγου, 2/5 των αδενοκαρκινωμάτων της χοληδόχου κύστης, 2/3 των αδενοκαρκινωμάτων του πνεύμονα, 2/3 των διηθητικών κυττάρων καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης, 1/2 των θηλωδών καρκινωμάτων του θυρεοειδούς και 3/3 των πλακωδών κυττάρων καρκινωμάτων του τραχήλου της μήτρας. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε 0/3 των αστροκυττάρων, 0/3 των αδενοκαρκινωμάτων του ορθού, 2/3 των διαυκυτταρικών νεφρικών καρκινωμάτων, 0/3 των αδενοκαρκινωμάτων του παγκρέατος, 0/2 των αδενοκαρκινωμάτων του προστάτη, 0/3 των αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου και 0/3 των πορογενών καρκινωμάτων του μαστού (Συνολικός αριθμός αξιολογηθέντων μη φυσιολογικών περιπτώσεων= 39).

**Το NCL-L-EGFR συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 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, αποψίξη, 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

### **Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση**

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

### **Ημερομηνία Έκδοσης**

02 Μαΐου 2019

# Novocastra™ Flydende Muse Monoklonalt Antistof

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Produktkode: NCL-L-EGFR

#### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-EGFR er beregnet til kvalitativ identifikation af Epidermal Growth Factor Receptor-molekyler i paraffinsnit ved lysmikroskopi.

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

#### Procedureprincip

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

EGFR.113

#### Immunogen

Prokaryot rekombinant fusionsprotein svarende til det eksterne domæne af det epidermale vækstfaktorreceptormolekyle.

#### Specifitet

Eksternt domæne af den humane epidermale vækstfaktorreceptor.

#### Reagenssammensætning

NCL-L-EGFR er en flydende vævskultursupernatant indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG2a

#### Totalprotein koncentration

Total Protein

Den partispecifikke totale protein koncentration kan findes på hætteglassets etiket.

#### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 26 mg/L som bestemt ved ELISA. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

#### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

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

**Foreslået fortynding:** 1:20 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 farvekørsel.

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

Anbefalet positivt kontrolvæv er placenta.

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-EGFR 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 EGFR.113 detekterede det epidermale vækstfaktorreceptorantigen på celleoverfladen i en række normale væv. Kraftig membranfarvning blev fundet i basalcellerne i hudepidermier og i skavets epitel i livmoderhalsen. I huden var talgkirtler også positive. Immunfarvning blev observeret i det pseudostratificerede epitel i bronchus, thymocytter og Hassalls blodlegemer i tymus og epithelium i spiserøret. Farvning blev også observeret i mave-tarmkanalepilet, hepatocytter i leveren og tubuli i nyrerne. Endometrial kirtler var også positive (samlet antal normale væv, der blev evalueret = 96).

#### Tumorvæv

Klon EGFR.113 farvede 3/3 pladecelle carcinomer i spiserøret, 2/5 adenocarcinomer i galdeblæren, 2/3 adenocarcinomer i lungen, 2/3 transitional cell carcinomas i blæren, 1/2 papillære carcinomer af skjoldbruskirtlen og 3/3 pladecellecarcinomer i livmoderhalsen. Der blev ikke observeret farvning i 0/3 astrocytomer, 0/3 adenocarcinomer i tyktarmen, 2/3 renalcellecarcinomer, 0/3 adenocarcinomer i bugspytkirtlen, 0/2 adenocarcinomer i prostata, 0/3 adenocarcinomer i maven og 0/3 ductale carcinomas i brystvævet (samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde 39).

**NCL-L-EGFR anbefales til påvisning af human epidermal vækstfaktorreceptorprotein 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, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andet væv eller andre væsker kan frembringe artefakter, indfangning af antistof eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indstøbningsmetoder eller 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

### **Rettelser Til Tidligere Udgave**

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

### **Udgivelsesdato**

02 maj 2019

# Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muisantilichaam Epidermal Growth Factor Receptor

Productcode: NCL-L-EGFR

## Beoogd gebruik

Voor gebruik bij *in-vitro*diagnostiek

NCL-L-EGFR is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie, van epidermale groeifactorreceptormoleculen 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 lichtmicroscop en helpen bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die al dan niet met een bepaald antigeen kunnen worden geassocieerd.

## Kloon

EGFR.113

## Immunogeen

Prokaryotisch fusie-eiwit, overeenkomend met het externe domein van het epidermale groeifactorreceptormolecuul.

## Specificiteit

Externe domein van de humane epidermale groeifactorreceptor.

## Reagenssamenstelling

NCL-L-EGFR is een vloeibaar supernatant uit weefselweek met natriumazide als conserveermiddel.

## Ig-klasse

IgG2a

## Totale eiwitconcentratie Total Protein

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

## Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 26 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 epitoopherstel (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER):** Volg de aanwijzingen voor gebruik in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Voorgestelde verdunning:** 1:20 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 kleuringssrun 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 placenta.

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 gedegenereerde 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 (cytochrom 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-EGFR 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 EGFR.113 detecteerde het epidermaal groeifactor-receptor-antigeen van het celoppervlak in een groot aantal normale weefsel. Sterke membraankleuring werd opgemerkt in de basaalcellen van de huidepidermis en in plaveiselepitheel van de cervix. In de huid waren de talgklieren ook positief. Immunokleuring werd waargenomen in het pseudoepitheliale epitheel in de bronchus, thymocyten en Hassall-bloedlichaampjes in de thymus en epitheelium in de slokdarm. Kleuring werd ook waargenomen in het epitheelium van het maagdarmkanaal, de hepatocyten in de lever en tubuli in de nier. De endometrische klieren waren ook positief (totaal aantal beoordeelde normale weefsels = 96).

### Afwijkende weefsels

Kloon EGFR.113 kleurde 3/3 plaveiselcelcarcinomen van de slokdarm, 2/5 adenocarcinomen van de galblaas, 2/3 adenocarcinomen van de long, 2/3 overgangselcarcinomen van de blaas, 1/2 papillaire carcinomen van de schildklier en 3/3 plaveiselcelcarcinomen van de cervix. Geen kleuring werd opgemerkt in 0/3 astrocytomen, 0/3 adenocarcinomen van de colon, 2/3 'clear cell'-niercarcinomen, 0/3 adenocarcinomen van de pancreas, 0/2 adenocarcinomen van de prostaat, 0/3 adenocarcinomen van de maag, en 0/3 ductale carcinomen van de borst (totaal aantal beoordeelde afwijkende gevallen = 39).

**NCL-L-EGFR wordt aanbevolen voor het detecteren van humaan epidermaal groeifactor-receptor-antigeen 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-objectglasjes en het interpreteren van de kleuringresultaten.

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

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

De klinische interpretatie van 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. 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

## Aanpassingen ten opzichte van de vorige uitgave

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

## Datum uitgave

02 mei 2019



# Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Produktkode: NCL-L-EGFR

#### Tiltenkt bruk

*Til in vitro-diagnostisk bruk.*

NCL-L-EGFR er beregnet brukt for kvalitativ identifikasjon ved bruk av lysmikroskopering av Epidermisk vekstfaktor-reseptormolekyler i paraffinsnitt. 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 kromogensubstrat 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

EGFR.113

#### Immunogen

Prokaryotisk fusjonsprotein som svarer til det ytre domenet til det epidermiske vekstfaktor-reseptormolekylet.

#### Spesifisitet

Eksternt domene av den humane epidermisk vekstfaktor-reseptoren.

#### Reagenssammensetning

NCL-L-EGFR er en flytende vevskultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG2a

#### Totalproteinkonsentrasjon Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk totalproteinkonsentrasjon.

#### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 26 mg/l som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for batchspesifikk Ig-konsentrasjon.

#### Anbefalinger for bruk

Immunhistokjemi på paraffinsnitt.

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

**Foreslått fortynning:** 1:20 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 parafinnstøpte 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. 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 placenta.

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

## Negativ reagenskontroll

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

## Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-EGFR 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 EGFR.113 påviser det epidermale vekstfaktor-reseptorantigenet på celleoverflaten i en rekke normale vev. Kraftig membranfarging ble funnet i de basale cellene i hudepidermer og i det skvamøse epitelet i cervix. Talgkjertler var også positive i huden. Immunofarging ble observert i pseudostratifisert epitel i bronkie, tymocytter og Hassalls korpuskler i tymus og epitel i øsofag. Farging ble også observert i det gastrointestinale kanalepitelet, hepatocytter i leveren og tubuli i nyrene. Endometriekjertler var også positive (totalt antall evaluerte normale vev = 96).

### Unormale vev

Klon EGFR.113 farget 3/3 skvamøse cellekarsinomer i øsofag, 2/5 adenokarsinomer i galleblæren, 2/3 adenokarsinomer i lungene, 2/3 transisjonelle cellekarsinomer i blæren, 1/2 papillære karsinomer i tyreoida og 3/3 skvamøse cellekarsinomer i cervix. Ingen farging ble observert i 0/3 astrocytomer, 0/3 adenokarsinomer i kolon, 2/3 renal klarcellekarsinomer, 0/3 adenokarsinomer i pankreas, 0/2 adenokarsinomer i prostata, 0/3 adenokarsinomer i magen og 0/3 ductale karsinomer i brystet (totalt antall evaluerte unormale tilfeller: 39).

**NCL-L-EGFR anbefales til deteksjon av humant epidermalt vekstfaktorreseptorprotein i normale og neoplastiske vev, som et tillegg til konvensjonell histopatologi ved 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, dyppfrysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, farging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpsmetoder 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 parafininnstøpte snitt med spesifikke fikseringskrav. Det kan forekomme uventet antigenuttrykk, spesielt i neoplasmer. Den kliniske tolkningen av ethvert farget vevsniitt må inkludere morfologisk analyse og evaluering av egnede kontroller.

## **Bibliografi – 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

## **Endringer på tidligere utgave**

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

## **Utstedelsesdato**

02 mai 2019

# Novocastra™ Likit Monoklonal Fare Antikoru

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Ürün Kodu: NCL-L-EGFR

#### Kullanım Amacı

*In vitro* diagnostik kullanım içindir.

NCL-L-EGFR parafin bölümlerindeki Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörünün ışık mikroskopisi ile kalitatif tanımlanması içindir. 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 antikoron uygulanması (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikoron uygulanması ve aralaradaki yıkama adımları ile, antijenlerin kromojenik substratlı bir enzim kompleksi yoluyla görselleştirilmesine olanak tanır. Kromojenin enzimle etkinleştirilmesi, antijen alanında gözle görülür bir tepkiye yol açar. Numune daha sonra karşıt boyanabilir ve lamelle örtülebilir. Sonuçlar bir ışık mikroskopu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabileceği veya olmayabileceği patofizyolojik süreçlerin ayrıncı tanısına yardımcı olur.

#### Clone

EGFR.113

#### İmmünojen

Epidermal büyüme faktörü reseptör molekülünün dış alanına karşılık gelen prokaryotik füzyon proteini.

#### Özgüllük

Epidermal büyüme faktörü reseptörünün dış alanı.

#### Reaktif Bileşimi

NCL-L-EGFR, koruyucu olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

#### Ig Sınıfı

IgG2a

#### Toplam Protein Konsantrasyonu Total Protein

Lota özgül toplam protein konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

#### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 26 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Seriyel özgül 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 1:20. 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 antikoronun performansı, diğer manuel boyama sistemleriyle veya otomatik platformlarla birlikte kullanıldığında doğrulanmalıdır.

#### Saklama ve Stabilite

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 Önlemler

Bu reaktif hücre kültürü süpermatanından 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 yayabileceği gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak atılmalıdır. 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 plasantadır.

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 immünoolojik olmayan bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Bu sonuçlar ayrıca, kullanılan immün-boyaya bağlı olarak psödoperoksidaz (eritrositler), endojen peroksidaz (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimlerden de kaynaklanabilir. Endojen enzim aktivitesini veya nonspesifik enzim bağlanmasını spesifik immünoreaktiveden ayırmak için ek hasta dokuları sırasıyla sadece substrat kromojen veya enzim kompleksleri (avidin-biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyanma olursa hasta 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-EGFR 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. Gerekirse yalnızca negatif reaksiyonları tanımlamak için bir antikor paneli kullanın.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Klon EGFR.113 birçok farklı normal dokuda hücre yüzeyi üzerinde epidermal büyüme faktörü reseptör antijenini saptamıştır. Deri epiderminde ve serviks skuamöz epitelyumunda güçlü membran boyaması tespit edilmiştir. Deride, yağ bezlerinin de pozitif olduğu belirlenmiştir. Bronş psödostratifitey epitalyunda, timustaki Hassal cisimciklerinde ve yutaktaki epitelyumda immüno-boyama gözlenmiştir. Ayrıca, mide bağırsak kanalı epitelyumunda, karaciğer hepatositlerinde ve böbrek tübüllerinde de boyama gözlenmiştir. Endometriyal bezlerin de pozitif olduğu görülmüştür (Değerlendirilen toplam normal doku sayısı = 96).

### Anormal Dokular

Klon EGFR.113; 3/3 yutak skuamöz hücreli karsinomlarını, 2/5 safra kesesi adenokarsinomlarını, 2/3 akciğer adenokarsinomlarını, 2/3 mesane transizyonel hücre karsinomlarını, 1/2 tiroid papiller karsinomlarını ve 3/3 servikal skuamöz hücreli karsinomlarını boyamıştır. 0/3 astrositlerde, 0/3 kolon adenokarsinomlarında, 2/3 renal berrak hücreli karsinomlarında, 0/3 pankreas adenokarsinomlarında, 0/2 prostat adenokarsinomlarında, 0/3 mide adenokarsinomlarında ve 0/3 meme duktal karsinomlarında boyama görülmemiştir (Toplam anormal vaka sayısı = 39).

**NCL-L-EGFR, immünoolojik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye yardımcı olarak normal ve neoplastik dokularda insan epidermal büyüme faktörü reseptör 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 yalnızca 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 karşıt 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'nin 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 yorum 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

## Önceki Sayıya Göre Değişiklikler

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

## Yayın Tarihi

02 Mayıs 2019

# Течно мише моноклонално антитяло Novocastra™ Epidermal Growth Factor Receptor

## Код на продукта: NCL-L-EGFR

### Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът NCL-L-EGFR е предназначен за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на молекули на рецептора на епидермален растежен фактор 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 патологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

### Клонинг

EGFR.113

### Имуноген

Прокариотен фузионен протеин, съответстващ на външния домен на молекула на рецептор на епидермален растежен фактор.

### Специфичност

Външен домен на рецептора на човешки епидермален растежен фактор.

### Състав на реагента

NCL-L-EGFR е течен супернатант от тъканна култура, съдържащ натриев азид като консервант.

### Имуноглобулинов клас

IgG2a

### 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 26 mg/L, както е определено с 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:** 1:20 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 буфериран формалин 10% за тъканни срези, вградени в парафин.

### Предупреждения и предпазни мерки

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

Този реагент съдържа натриев азид. 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 третира като възможни

переносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.<sup>1</sup> Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

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

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

## Качествен контрол

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

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

## Позитивна тъканна контрола

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

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

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

Препоръчителната тъкан за позитивна контрола е плацентата.

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 антияло.

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 имуна реактивност ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или с ензимни комплекси (авидин-биотин, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в негативната тъканна контрола, резултатите от спесимените на пациентите трябва да се считат за невалидни.

## Негативна контрола на реагента

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

## Тъкан от пациента

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

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

Клонинг EGFR.113 открива антигена рецептор на епидермален растежен фактор на клетъчната повърхност в редица нормални тъкани. Силно оцветяване на мембраната се открива в базалните клетки на епидермиса на кожата и в плоскоклетъчния епител на цервикса. Позитивни са също и мастните жлези в кожата. Имунооцветяване се наблюдава в псевдостратифицирания епител на бронхите, тимоцитите и Хасалевите телца в тимуса, както и в епитела на хранопровода. Оцветяване се наблюдава също в епитела на стомашно-чревния тракт, хепатоцитите на черния дроб и бъбречните каналчета. Позитивни са също ендометриалните жлези (Общ брой на оценените нормални тъкани = 96).

### Абнормни тъкани

Клонинг EGFR.113 оцветява 3/3 плоскоклетъчни карцинома на хранопровода, 2/5 аденокарцинома на жлъчния мехур, 2/3 аденокарцинома на белия дроб, 2/3 преходноклетъчни карцинома на пикочния мехур, 1/2 папиларни карцинома на щитовидната жлеза и 3/3 плоскоклетъчни карцинома на цервикса. Не се наблюдава оцветяване при 0/3 астрцитомата, 0/3 аденокарцинома на ободното черво, 2/3 светлоклетъчни карцинома на бъбреците, 0/3 аденокарцинома на панкреаса, 0/2 аденокарцинома на простатата, 0/3 аденокарцинома на стомаха и 0/3 дуктални карцинома на гърдата (Общ брой на оценените абнормни случаи: 39).

**Продуктът NCL-L-EGFR се препоръчва за откриване на рецепторния протеин на човешки епидермален растежен фактор 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, срязване 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

## Изменения на предишно издание

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

## Дата на издаване

02 Май 2019 г.

# Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Termékkód: NCL-L-EGFR

#### Alkalmazási terület

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-EGFR az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) 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 fénymikroszkóppal használatával értelmezhetők, majd segítségül használhatók a patofiziológias folyamatok differenciáldiagnóza során, amely folyamatok az esetek egy részében konkrét antigénhez kapcsolódnak.

#### Klón

EGFR.113

#### Immunogén

Az epidermális növekedési faktor receptor molekula külső doménjének megfelelő prokarióta eredetű fúziós fehérje.

#### Specifitás

A humán epidermális növekedési faktor receptor külső doménje.

#### A reagens összetétele

Az NCL-L-EGFR egy tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

#### Ig-osztály

IgG2a

#### Összfehérje-koncentráció Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

#### Antitest-koncentráció

Legalább 26 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:** 1:20, 30 percen át, 25 °C-on. Az adatok csak útmutatásul szolgálnak, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkadadataikat.

**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 lejárati dátum után. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell.

#### A minták előkészítése

A javasolt fixálószer a paraffinos szövetmetszeteknél 10%-os, semleges pufferrolású formalin.

#### Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejt-kultúra 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 fertőzőesek terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani.<sup>1</sup> Soha ne pipettázza szájjal a reageneket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagenekkel és a mintákkal. Ha a reagenek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.

Minimálisan kell csökkenteni a reagenek 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, amelyekkel a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formalinban fixálni, feldolgozni és paraffinvaszba ágyazni.

## Posztív szövETkontroll

A megfelelő szövET-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

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

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

A javasolt pozitív kontrollszövet a placenta.

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 degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.<sup>3</sup> A fehérjék vagy a szubsztrát reakciótermékeinek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredmények jelentkezhetnek. Okozhatják ezt olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (eritrociták), endogén peroxidáz (citokrom C), illetve endogén biotin (pl. máj, mell, agy, vese), az alkalmazott immunmegfestés típusától függően. Az endogén enzim aktivitásának vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére 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 metszeten alkalmazzon az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt.

## Betegszövet

Az NCL-L-EGFR 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 EGFR.113 klón különböző normál szövetek sejtjeinek fklszínén mutatja ki az epidermális növekedési faktor receptor antigént. Erős membránfestődés volt látható a bőr epidermiszének bazális sejtjeiben, valamint a méhnyak laphámjában. A bőrben a fagyúmirigyek szintén pozitív festődést mutattak. Immunfestődés volt megfigyelhető a bronchusok többmagsoros hengerhámjában, a csecsemőmirigy Hassall-testeiben és timocitáiban, valamint a nyelöcső laphámjában. Emellett festődés volt megfigyelhető az emésztőrendszer laphámjában, a máj hepatocitáiban és a vesetubulusokban. Az endometriális mirigyek is pozitívan voltak (vizsgált normál szövetek összesített száma = 96).

### Kóros szövetek

Az EGFR.113 klón megfestett 3/3 laphámsejtes nyelöcső-karcinómát, 2/5 epehólyag-adenokarcinómát, 2/3 tüdő-adenokarcinómát, 2/3 átmeneti sejtis húgyhólyag-karcinómát, 1/2 papilláris pajzsmirigy-karcinómát és 3/3 laphámsejtes méhnyak-karcinómát. Nem volt festődés megfigyelhető asztrocitómák (0/3), vastagbél-adenokarcinómák (0/3), világossejtjes karcinómák (2/3), hasnyálmirigy-adenokarcinómák (0/3), prosztata-adenokarcinómák (0/2), gyomor-adenokarcinómák (0/3) és ductális emlőkarcinómák (0/3) esetében (kóros esetek összesített száma = 39).

**Az NCL-L-EGFR a humán epidermális növekedési faktor receptor fehérje kimutatására ajánlott normál és daganatos szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszövettani eljárások kiegészítéseként.**

## Általános korlátozások

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

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

A túlzott vagy hiányos kontrasztvesztés 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 metszeten 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.

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 elemzés 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplach S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

## **Módosítások az előző változathoz képest**

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

## **Kiadás dátuma**

2019. május 02.

# Novocastra™ Anticorp monoclonal lichid de șoarece Epidermal Growth Factor Receptor

## Cod produs: NCL-L-EGFR

### Utilizare prevăzută

*Pentru diagnosticare in vitro.*

NCL-L-EGFR este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a moleculelor de Receptor de Factor de Creștere Epidemic 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

EGFR.113

### Imunogen

Proteină procariotă de fuziune corespunzând domeniului extern al moleculei de receptor de factor de creștere epidemic.

### Specificitate

Domeniul extern al receptorului de factor de creștere epidemic.

### Compoziția reactivului

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

### Clasa Ig

IgG2a

### Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

### Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 26 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:** 1:20 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 deșeurii 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 speciemenelor 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 incubare care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificări trebuie validate de către utilizator.

## Controlul calității

Diferențele în ceea ce privește procesarea țesutului și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului pot cauza o variabilitate semnificativă a rezultatelor, necesitând efectuarea cu regularitate de controale interne, în plus față de următoarele proceduri.

Probele de control trebuie să fie probe proaspete de autopsie/biopsie/chirurgicale, fixate în formalină, procesate și încorporate în ceară de parafină cât mai curând posibil și în aceeași manieră ca și probele pacientului.

## Țesutul de control pozitiv

Folosit pentru a indica țesuturile pregătite corect și tehnicile de 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 placenta.

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

## Țesutul de control negativ

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

Țesutul de control negativ recomandat este creierul.

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

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are, de obicei, un aspect difuz. Colorația sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată, de asemenea, în secțiuni de țesuturi fixate în mod excesiv în formalină. Folosiți celule intacte pentru interpretarea rezultatelor de 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 țesuturi suplimentare de la pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

## Reactivul de control negativ

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

## Țesutul pacientului

Examinați probele pacientului colorate cu NCL-L-EGFR 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 EGFR.113 a detectat antigenul de receptor de factor de creștere epidermic pe suprafața celulară într-o varietate de țesuturi normale. S-a observat o colorare puternică a membranei în celulele bazale ale epidermei pielii și în epiteliul scuamos stratificat al colului uterin. În piele, glandele sebacee au fost de asemenea pozitive. S-a observat imunocolorație în epiteliul pseudostratificat al bronhiilor, timocitelor și corpusculilor lui Hassall din timus și în epiteliul esofagului. S-a observat de asemenea colorare în epiteliul tubului gastrointestinal, hepatocite la nivelul ficatului și tubuli la nivelul rinichiului. Glandele endometriale au fost de asemenea pozitive (Număr total de țesuturi normale evaluate= 96).

### Țesuturi anormale

Clona EGFR.113 a colorat 3/3 carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului, 2/5 adenocarcinoame ale vezicii biliare, 2/3 adenocarcinoame ale plămânului, 2/3 carcinoame cu celule tranzitionale ale vezicii urinare, 1/2 carcinoame papilare ale tiroidei și 3/3 carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin. Nu a fost observată vreo colorare în 0/3 astrocitoame, 0/3 adenocarcinoame ale colonului, 2/3 carcinoame cu celule renale clare, 0/3 adenocarcinoame ale pancreasului, 0/2 adenocarcinoame ale prostatei, 0/3 adenocarcinoame ale stomacului și 0/3 carcinoame mamare ductale (Număr total de cazuri anormale evaluate 39).

**NCL-L-EGFR este recomandat pentru detectarea proteinei receptoare pentru factorul de creștere epidermic uman în țesuturi normale și neoplazice, ca adjuvant la histopatologia convențională utilizând colorații histochimice 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, 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

## Amendamente la ediția anterioară

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

## Data publicării

02 mai 2019

# Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ Epidermal Growth Factor Receptor

## Код продукта: NCL-L-EGFR

### Назначение

*Для диагностики in vitro*

Препарат NCL-L-EGFR предназначен для качественной идентификации молекул Epidermal Growth Factor Receptor 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

EGFR.113

### Иммуноген

Слитый белок из прокариотических клеток, соответствующий внешнему домену молекул рецептора эпидермального фактора роста.

### Специфичность

Внешний домен рецептора эпидермального фактора роста человека.

### Состав реактива

NCL-L-EGFR является супернатантом жидкой культуры тканей, содержащим азид натрия в качестве консерванта.

### Класс иммуноглобулинов

IgG2a

### Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

### Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 26 мг/л при определении 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:** 1:20 в течение 30 минут при 25 °С. 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 °С. Не замораживать. После использования незамедлительно вернуть на хранение при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке флакона даты истечения срока годности. Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть проверены пользователем.

### Подготовка образцов

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

### Предупреждения и меры предосторожности

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

Этот реактив содержит азид натрия. Паспорт безопасности химической продукции предоставляется по запросу или доступен на сайте: [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 пипетку ртом и не допускайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.

Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

## **Контроль качества**

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

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

## **Положительный контроль ткани**

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

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

Плацента является тканью, которую рекомендуется использовать в качестве положительного контроля.

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 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 иммуноного окрашивания. Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифическое связывание ферментов от специфической иммуореактивности, 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 полученные у пациентов образцы, окрашенные NCL-L-EGFR, 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 EGFR.113 обнаружил антиген рецептора эпидермального фактора роста на поверхности клеток в различных нормальных тканях. Сильное мембранное окрашивание обнаружено в базальных клетках эпидермиса и в плоском эпителии шейки матки. Окрашивание также было положительным в коже и салньных железах. Иммуноокрашивание наблюдалось в псевдоэпителиализованном эпителии в бронхах, тимоцитах и тельцах Гассала в тимусе и эпителии в пищеводе. Окрашивание также наблюдалось в эпителии желудочно-кишечного тракта, гепатоцитах в печени и почечных канальцах. Окрашивание также наблюдалось в эндометриальных железах (общее число образцов исследованных нормальных тканей = 96).

#### Патологически измененные ткани

Клон EGFR.113 окрашивал в 3/3 случаев плоскоклеточной карциномы пищевода, 2/5 случаев аденокарциномы желчного пузыря, 2/3 случаев аденокарциномы легкого, 2/3 случаев карциномы переходных клеток мочевого пузыря, 1/2 случаев папиллярной карциномы щитовидной железы и 3/3 случаев плоскоклеточной карциномы шейки матки. При следующих случаях окрашивания не наблюдалось: 0/3 случаев астроцитомы, 0/3 случаев аденокарциномы толстой кишки, 2/3 случаев светлоклеточной почечной карциномы, 0/3 случаев аденокарциномы поджелудочной железы, 0/2 случаев аденокарциномы простаты, 0/3 случаев аденокарциномы желудка и 0/3 случаев карциномы протоков молочной железы (общее число исследованных патологически измененных образцов = 39).

**NCL-L-EGFR рекомендуется использовать для определения белка рецептора эпидермального фактора роста в здоровых и пораженных опухолью тканях в качестве дополнения к стандартным гистопатологическим исследованиям с применением неиммунного гистохимического окрашивания.**

#### **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. 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplachik S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

#### **Дополнения к предыдущему выпуску**

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

#### **Дата выпуска**

02 Май 2019 г.

# Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™

## Ludzki receptor naskórkowy czynnika wzrostu

### Kod produktu: NCL-L-EGFR

#### Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Produkt NCL-L-EGFR jest przeznaczony do badań laboratoryjnych, w celu identyfikacji jakościowej za pomocą mikroskopii świetlnej ludzkiego receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) 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 przemycania. Aktywacja enzymatyczna chromogenu prowadzi do wytworzenia widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Następnie można wykonać barwienie kontrastowe próbki i zakryć ją szkiełkiem nakrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu świetlnego i pomagają w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek z określonym antygenem.

#### Klon

EGFR.113

#### Immunogen

Prkariotyczne białko fuzyjne odpowiadające zewnętrznej domenie ludzkiej cząsteczki receptora naskórkowego czynnika wzrostu.

#### Swoistość

Zewnętrzna domena receptora naskórkowego czynnika wzrostu.

#### Skład odczynnika

NCL-L-EGFR jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej konserwowanym azydkiem sodu.

#### Klasa Ig

IgG2a

#### Całkowite stężenia białka Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

#### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 26 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:** 1:20 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 zeweryfikować 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 użytkować 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.<sup>1</sup> 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 odczynniki 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.

Kontrolę 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>

Pozytywna kontrola tkankowa powinna obejmować łożysko.

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

### **Tkankowa kontrola negatywna**

Należy ją wykonać po tkankowej kontroli pozytywnej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygeny przez przeciwi ciało 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 pseudoperoksydaza (erytrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna biotylna (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta mogą być barwione wyłącznie substratem chromogenu lub kompleksem enzymatycznym (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenu. 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 przeciwi ciała pierwszorzędowego.

### **Tkanka pacjenta**

Próbki pacjenta wybarwione testem NCL-L-EGFR 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 wykorzystywać panel przeciwi ciało.

### **OCZEKIWANE WYNIKI**

#### Tkanki prawidłowe

Klon EGFR.113 wykrył antygen receptora naskórkowego czynnika wzrostu na powierzchni komórki w różnych prawidłowych tkankach. Silne wybarwienie błony stwierdzono w podstawowych komórkach naskórka skóry i w nabłonku płaskim szyjki macicy. Gruczoły łojowe w skórze również dały wynik pozytywny. Immunobarwienie zaobserwowano w nabłonku rzekomowielowarstwowym oskrzeli, tymocytach i ciążkach Hassalla w grasicy i nabłonku w przełyku. Barwienie zaobserwowano również w nabłonku przewodu pokarmowego, hepatocytach wątroby i kanalikach nerkowych. Gruczoły śluzówki macicy dały również wynik dodatni (całkowita liczba ocenionych prawidłowych tkanek = 96)

#### Tkanki nieprawidłowe

Klon EGFR.113 wybarwił 3/3 raki płaskonabłonkowe przełyku, 2/5 gruczolakoraki pęcherzyka żółciowego, 2/3 gruczolakoraki płuc, 2/3 raki przejściowokomórkowe pęcherza moczowego, 1/2 raka brodawkowatego tarczycy i 3/3 raki płaskonabłonkowe szyjki macicy. Nie stwierdzono barwienia w 0/3 gwiaździakach, 0/3 gruczolakorakach okrężnicy, 2/3 rakach jasnokomórkowych nerki, 0/3 gruczolakorakach trzustki, 0/2 gruczolakorakach gruczołu krokowego, 0/3 gruczolakorakach żółtaka i 0/3 rakach przewodowych sutka (całkowita liczba przypadków nieprawidłowych = 39).

**Zaleca się stosowanie NCL-L-EGFR do wykrywania ludzkiego białka receptorowego naskórkowego czynnika wzrostu w tkankach prawidłowych i nowotworowych, jako uzupełnienie konwencjonalnej histopatologii z zastosowaniem nieimmunologicznych wybarwień histologicznych.**

## 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnson S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

## Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

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

## Data publikacji

02 maja 2019 r.

# Tekoče mišje monoklonsko protitelo Novocastra™

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Koda izdelka: NCL-L-EGFR

#### Predvidena uporaba

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Izdelek NCL-L-EGFR je namenjen za kvalitativno identifikacijo molekul receptorja za epidermalni rastni dejavnik 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

EGFR.113

#### Imunogen

Prokarionski fuzijski protein, ki ustreza zunanji domeni molekule receptorja za epidermalni rastni dejavnik.

#### Specifičnost

Zunanja domena človeškega receptorja za epidermalni rastni dejavnik.

#### Sestava reagenta

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

#### Razred Ig

IgG2a

#### Skupna koncentracija beljakovin Total Protein

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

#### Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 26 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):** Upošteвайте navodila za uporabo raztopine za pridobivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

**Predlagano redčenje:** 1:20 za 30 minut pri 25 °C. To so samo smernice; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne razredčine.

**Vizualizacija:** Upošteвайте 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 fiksirna raztopina je 10-% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, vstavljene v parafin.

#### Opozorila in previdnostni ukrepi

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

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

Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitnih strupenih sestavin.

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

Pazite, da ne pride do mikrobnega 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.

## Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

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

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

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

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo placente.

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

## Negativni kontrolni vzorci tkiva

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

Za negativni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo malih možganov.

Drugače pa se kot 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 imunске reaktivnosti, lahko barvate dodatna tkiva bolnika izključno ali s kromogenskim substratom ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) in kromogenskim 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 antigenskem 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-EGFR. 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 EGFR.113 je zaznal antigen receptorja za epidermalni rastni dejavnik na celični površini različnih normalnih tkiv. Močno obarvanje membrane so opazili v bazalnih celicah povrhnjice kože ter v skvamoznem epiteliju materničnega vratu. V koži so bile pozitivne tudi znojne žleze. Imunobarvanje je bilo opaženo v psevdostratificiranemu epiteliju v bronhusu, timocitih in Hassalovih telescih v timusu in epiteliju v požiralniku. Obarvanje je bilo opaženo tudi v epiteliju prebavnega trakta, v hepatocitih v jetrih in v tubulah v ledvicah. Endometrijske žleze so bile prav tako pozitivne (Skupno število ocenjenih normalnih tkiv = 96).

### Nenormalna tkiva

Klon EGFR.113 je obarval 3/3 skvamozne celične karcinome požiralnika, 2/5 adenokarcinomov žolčnika, 2/3 adenokarcinomov pljuč, 2/3 tranzicocelularnih karcinomov mehurja, 1/2 papilarnih karcinomov ščitnice in 3/3 skvamoznih celičnih karcinomov materničnega vratu. Obarvanja ni bilo pri 0/3 astrocitih, 0/3 adenokarcinomih debelega črevesa, 2/3 ledvičnih svetloceličnih karcinomih, 0/3 adenokarcinomih trebušne slinavke, 0/2 adenokarcinomih prostate, 0/3 adenokarcinomih trebuha in 0/3 duktalnih karcinomov dojk (Skupno število ocenjenih anormalnih primerov = 39).

**NCL-L-EGFR se priporoča za zaznavo proteina receptorja za človeški epidermalni rastni dejavnik pri normalnih in neoplastičnih tkivih, kot dodatek h konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunološkega histokemičnega barvanja.**

## Splošne omejitve

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

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegovo obdelavo pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odtajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali lažne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega. 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 Newcasttle 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

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

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

## **Datum izdaje**

02 maj 2019



# Novocastra™ Tekutá myší monoklonální protilátka Epidermal Growth Factor Receptor

## Kód výrobku: NCL-L-EGFR

### Zamýšlené použití

*Pro diagnostické použití in vitro.*

NCL-L-EGFR je určen ke kvalitativnímu stanovení molekul receptoru pro epidermální růstový faktor světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a rozhodnutí 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. Vzorok pak může být kontrastně nabarven a překryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují ve světelném mikroskopu; jsou pomůckou v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí, souviset s příslušným antigenem.

### Klon

EGFR.113

### Imunogen

Prokaryotický fúzní protein odpovídající externí doměně molekuly receptoru pro epidermální růstový faktor.

### Specifita

Externí doména lidského receptoru pro epidermální růstový faktor.

### Složení reagentie

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

### Třída Ig

IgG2a

### Koncentrace celkového proteinu Total Protein

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

### Koncentrace protilátek

26 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:** 1:20 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 reagensů, 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.

## Pozitivní 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 reagentie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.<sup>2</sup>

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je placenta.

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 formálem 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> Falešné 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 tkáně pacienta výlučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

## Negativní reagenční kontrola

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

## Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-EGFR. 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/tkáních přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon EGFR.113 detekoval receptor pro epidermální růstový faktor jako antigen na buněčném povrchu u různých normálních tkání. Silné membránové barvení bylo pozorováno u bazálních buněk kožní epidermis a u dlaždicového epitelu děložního hrdla. V kůži byly také pozitivní mazové žlázy. Imunobarvení bylo pozorováno v pseudovrstevnatém epitelu v průduškách, thymocytech a Hassalových tělískách v thymu a epitelu v jícnu. Barvení bylo také pozorováno v epitelu gastrointestinálního traktu, hepatocytech v játrech a v tubulech v ledvinách. Pozitivní byly také endometriální žlázy (celkový počet hodnocených normálních tkání = 96).

### Abnormální tkáň

Klon EGFR.113 barvil 3/3 dlaždicobuněčných karcinomů jícnu, 2/5 adenokarcinomů žlučníku, 2/3 adenokarcinomů plic, 2/3 karcinomů z tranzičních buněk močového měchýře, 1/2 papilární karcinomů štítné žlázy a 3/3 dlaždicobuněčných karcinomů děložního hrdla. Barvení nebylo pozorováno u 0/3 astrocytomů, 0/3 adenokarcinomů tlustého střeva, 2/3 renálních světlóbuněčných karcinomů, 0/3 adenokarcinomů slinivky, 0/2 adenokarcinomů prostaty, 0/3 adenokarcinomů žaludku a 0/3 duktálních karcinomů prsu (celkový počet hodnocených abnormálních případů = 39).

**Produkt NCL-L-EGFR se doporučuje použít k detekci lidských proteinů receptoru epidermálního růstového faktoru v normálních a neoplastických tkáních jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.**

## Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je vícekrokový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagensů; 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 kontaminaci 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 jakéhokoli barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfoložickou 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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. Journal of Clinical Pathology. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? BJU Int. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. Acta Med Okayama 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. Journal of Clinical Pathology. 1998; 51:583–587.

### **Opravy předchozího vydání**

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

### **Datum vydání**

02 květen 2019

# Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

## Epidermal Growth Factor Receptor

### Kód produktu: NCL-L-EGFR

#### Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

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

#### Princíp postupu

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

#### Klon

EGFR.113

#### Imunogén

Prokaryotický fúzny proteín zodpovedajúci externej doméne molekuly receptora epidermálneho rastového faktora.

#### Špecificita

Externá doména receptora ľudského epidermálneho rastového faktora.

#### Zloženie činidla

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

#### Trieda Ig

IgG2a

#### Celková koncentrácia proteínov Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 26 mg/l podľa ELISA. Koncentráciu Ig špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

#### Odporúčania na použitie

[Imunohistochemia parafinových rezov.](#)

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

**Odporúčané riedenie:** 1: 20 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 poskytnú 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.

#### Ukladnenie a stabilita

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

#### Príprava vzorky

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

#### Varovania a bezpečnostné opatrenia

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

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

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

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

## Kontrola kvality

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

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

## Pozitívna kontrola tkanívom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia.

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

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

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je placenta.

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

## Negatívna kontrola tkanívom

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

Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu je mozoček.

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

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

## Negatívna kontrola číndlom

Na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia použite nešpecifickú negatívnu kontrolu číndlom 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-EGFR preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného

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

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon EGFR.113 detegoval antigén receptora epidermálneho rastového faktora na bunkovom povrchu v rôznych normálnych tkanivách. Bolo zaznamenané silné zafarbenie membrány v bazálnych bunkách epidermy kože a v skvamóznom epiteli krčka maternice. Pozitívne boli aj mazové žľazy v koži. Imunofarbenie bolo pozorované v pseudostratifikovanom epiteli bronchu, v tymocytoch a Hassalových telieskach v detskej žľaze a v epiteli pažeráka. Zafarbenie bolo taktiež pozorované v epiteli gastrointestinálneho traktu, v hepatocytoch pečene a v kanálikoch obličky. Endometriálne žľazy boli taktisto pozitívne (celkový počet normálnych vyšetrených tkanív = 96).

### Abnormálne tkanivá

Klon EGFR.113 zafarbil 3/3 dlaždicovobunkových karcinómov pažeráka, 2/5 adenokarcinómov žľázka, 2/3 adenokarcinómov pľúc, 2/3 karcinómov močového mechúra z prechodných buniek, 1/2 papilárnych karcinómov štítnej žľazy a 3/3 dlaždicovobunkových karcinómov krčka maternice. Nebolo pozorované žiadne zafarbenie 0/3 astrocytómov, 0/3 adenokarcinómov hrubého čreva, 2/3 renálnych svetlobunkových karcinómov, 0/3 adenokarcinómov pankreasu, 0/2 adenokarcinómov prostaty, 0/3 adenokarcinómov žalúdka a 0/3 dukálnych karcinómov prsníka (celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 39).

**Prípravok NCL-L-EGFR sa odporúča na detekciu proteínu ľudského receptora epidermálneho rastového faktora 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 číndiel, výbere tkanív, fixácie a spracovania, príprave IHC sklčka a interpretácii výsledkov farbenia.

Farbenie tkaniva závisí od manipulácie s tkanivom a od jeho spracovania pred farbením. Nesprávna fixácia, mrazovanie, 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.

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

### **Bibliografia – všeobecne**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.

### **Úpravy predchádzajúceho vydania**

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

### **Dátum vydania**

02 Smieľ 2019

# Novocastra™ جسم مضاد أحادي النسيلة سائل لدى الفرنان

## Epidermal Growth Factor Receptor

### رمز المنتج: NCL-L-EGFR

#### الاستعمال المستهدف

مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.

NCL-L-EGFR مخصص من أجل التحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لجزيئات مستقبل عامل نمو البشرة في مقاطع البارافين. ينبغي أن يُستكمل 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 يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

#### مبدأ الإجراء

تسمح تقنيات التلوين الكيميائي المناعي (IHC) بتصوير المستضدات عبر التطبيق المتسلسل لجسم مضاد معين إلى المستضد (الجسم المضاد الأولي)، وهو جسم مضاد ثانوي للجسم المضاد الأولي ومجموع إنزيم مع ركيزة مؤلّدة اللون مع خطوات غسل متداخلة. ينتج التنشيط الإنزيمي للكروموجين مؤلّذ اللون منتج تفاعل مرئي في موقع المستضد. ومن ثم يمكن بعدها استخدام صبغة شلّونية مثابئة للبيئة وتغطيتها بروقاقة زجاجية على شريحة مجهر. يتم تفسير النتائج باستخدام المجهر الضوئي والمساعدة في التشخيص التفريقي للعمليات الفيزيولوجية المرضية، والتي قد ترتبط أو لا ترتبط بمستضد معين.

#### مستضد

EGFR.113

#### مستضد

بروتين الصهار مأثوب بدائي النواة متوافق مع النطاق الخارجي لجزيء مستقبل عامل نمو البشرة.

#### خصوصية

النطاق الخارجي لجزيء مستقبل عامل نمو البشرة لدى الإنسان.

#### تكويّن الكاشف

NCL-L-EGFR هو مادة طافية لمزرعة نسيجية سائلة تحتوي على أزيد الصوديوم كمادة حافظة.

#### قبة الغلوبولين المناعي

IgG2a

#### تركيز البروتين الكلي

راجع ملصق تسمية القارورة لتشغيلية محددة من تركيز البروتين الكلي.

#### تركيز الجسم المضاد

أكثر من أو يساوي 26 مجم/لتر حسبما تحدد مقايمة المتمز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA). راجع ملصق تسمية القارورة لدرجة محددة من تركيز الغلوبولين المناعي.

#### توصيات حول الاستخدام

تقنية الكيمياء النسيجية المناعية على مقاطع البارافين.

استرجاع الحاتمة العنبر بالحرارة (HIER): يُرجى اتباع التعليمات لاستخدامها في محلول استرجاع الحاتمة ذي الأس البيدرجيني من 6 Novocastra .

التخفيف المقترح: 01:20 من 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 التلطيخ اليدوية أو المنصات الآلية الأخرى.

#### التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. يجب عدم تجميده أعـد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرة. لا يُستعمل بعد تاريخ انتهاء الصلاحية المومن على ملصق الزجاج. يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه.

#### إعداد العينة

المثبّت الموصى به هو الفورمالين المحمي المعايـد 10% لمقاطع الأنسجة المنمجة 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 الفيدريالية أو الخاصة بالولاية أو المحلية بشأن التخلص من أي مكونات قد تكون سامة.

ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعدّه، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة؛ لا يتم باستخدام الكواشف أبدًا في الأيوب الماصة عن طريق الفم وتجنب ملامسة الكواشف والعينات للجلد والأغشية المخاطية. إذا كانت الكواشف أو العينات تحتك بمناطق حساسة، فغسلك بغسل هذه المناطق

بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.

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

قد تؤدي أوقات الحضانة أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أي تغيير كهذا 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 / خ / ع / 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 المشيمة.

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، عادة ما يكون له مظهر منتثر. كما يمكن ملاحظة تلطيح منقطع 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

(السيروتورم سي)، أو البويتين 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 الأنسجة المريض الإضافية بشكل حصري بمركبات الركيزة أو كروموجين الركيزة (أفيدين-البويتين، سترينتايفين، 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-EGFR 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 هستولوجي مناعي، فإن النتيجة السلبية تعني أن المستضد لم يتم اكتشافه، وليس أن المستضد غير موجود في الخلايا/الأنسجة التي تمت معايرتها. إذا لزم الأمر، استخدم لوحة من الأجسام المضادة لتحديد التفاعلات السلبية الكاذبة.

## النتائج المتوقعة

### الأنسجة الطبيعية

كشف المستنسخ EGFR.113 عن وجود مستضد مستقل **عامل نمو البشرة** على سطح خلايا مجموعة متنوعة من الأنسجة الطبيعية. تم العثور على تلطيح غشاء قوي في الخلايا القاعدية لأدمة الجلد وفي الظهارة الحرشفية لعنق الرحم. في الجلد، كانت الغدد الدهنية إيجابية أيضاً. ولوحظت المناعية في الظهارة التراصفية الكاذبة في القصبات الهوائية، والخلايا للمفاوية داخل الغدة الصعترية، وكريات هامل في الغدة الصعترية والظهارة في المريء. كما لوحظ وجود تلطيح في ظهارة الجهاز الهضمي، والخلايا الكبدية في الكبد والأنابيب في الكلى. وكانت غدد بطانة الرحم إيجابية أيضاً (العدد الإجمالي للأنسجة الطبيعية التي تم تقييمها = 96).

### الأنسجة الورمية

المستنسخ EGFR.113 لطح 3/3 سرطان الخلايا الحرشفية في المريء، 2/5 سرطان غدي في المرارة، 2/3 سرطان غدي في الرئة، 2/3 سرطان الخلايا الانتقالية في المثانة، 1/2 سرطان حليمي في الغدة الدرقية، و3/3 سرطان الخلايا الحرشفية في عنق الرحم. لم يُشاهد أي تلطيح في 0/3 سرطان الخلايا النجمية، 0/3 ورم سرطاني غدي بالفولون، 2/3 سرطان الخلايا الكلوية الصافية، 0/3 ورم سرطاني غدي بالبنكرياس، 0/2 ورم سرطاني غدي بالبروستاتا، 0/3 ورم سرطاني غدي بالمعدة، و0/3 سرطان الأبقية في الثدي (إجمالي عدد الحالات الورمية التي تم تقييمها = 39).

**يوصى باستخدام NCL-L-EGFR في الكشف عن بروتين مستقل عامل نمو البشرة لدى الإنسان في الأنسجة العادية والورمية، كعامل مساعد لعلم أمراض الأنسجة التقليدي باستخدام تلطيخ نسيجي كيميائي غير مناعي.**

## القيود العامة

الكيمياء البيولوجية المناعية هي عملية تشخيصية متعددة الخطوات تتكون من تدريب متخصص في اختيار 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 التجفيد، أو الذوبان، أو الغسيل، أو التخييف، أو التسخين، أو التقسيم غير السليم أو التلوث مع الأنسجة أو المواد الأخرى إلى نتائج سلبية، أو احتجاز المستضدات، أو نتائج سلبية كاذبة. قد تكون النتائج غير المتناسقة 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 والخصائص الصحية، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي تُجرىها 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 ملطيخ نسيج ملطيخ التحليل المورفولوجي وتقييم الخصائص المناسبة.

## قائمة المراجع - عام

### تعديلات على الإصدار السابق

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

### تاريخ الإصدار

02 مايو 2019



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. Lodge AJ, Anderson JJ, Gullick WJ et al. Type 1 growth factor receptor expression in node positive breast cancer: adverse prognostic significance of c-erbB-4. *Journal of Clinical Pathology*. 2003; 56(4):300–304.
6. Sriplakich S, Jahnsen S and Karlsson MG. Epidermal growth factor receptor expression: predictive value for the outcome after cystectomy for bladder cancer? *BJU Int*. 1999; 83(4):498–503.
7. Inoue K, Chikazawa M, Karashima T et al. Overexpression of c-Met/hepatocyte growth factor receptors in human prostatic adenocarcinoma. *Acta Med Okayama* 1998; 52(6):305–310.
8. Tungekar MF and Linehan J. Patterns of expressions of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor in squamous cell lesions of the urinary bladder. *Journal of Clinical Pathology*. 1998; 51:583–587.



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