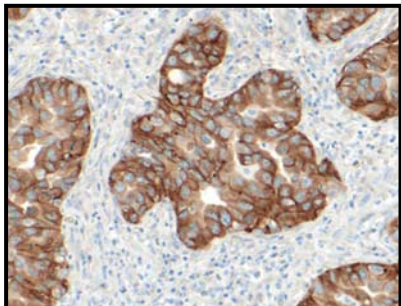


## CONFIRM® anti-EGFR (5B7) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Katalogové číslo 790-4347



### POUŽITÍ

Tato protilátka je určena k diagnostice *in vitro* (IVD).

Králičí monoklonální protilátka CONFIRM anti-EGFR (5B7) Rabbit Monoclonal Antibody výrobce Ventana Medical Systems (Ventana) je primární protilátka určená ke kvalitativní detekci přítomnosti vnitřní domény EGFR, a to zkoumáním vzorku (fixovaného formaldehydem, zalitého do parafínu a obarveného v

barvicím automatu Ventana) pomocí světelné mikroskopie. Tato protilátka je směřována proti vnitřní doméně lidského receptoru pro epidermální růstový faktor (Epidermal Growth Factor Receptor, nazývaného též EGFR, ErbB1 nebo HER 1). Klinická interpretace jakéhokoliv zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být doplněna morfoloickými studii a hodnocením řádných kontrol. Hodnocení musí v kontextu klinické anamnézy pacienta a jiných diagnostických testů provádět kvalifikovaný patolog.

### SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

CONFIRM anti-EGFR (5B7) je králičí monoklonální protilátka vyrobená proti syntetickému peptidu z karboxylové terminální (cytoplazmové) oblasti EGFR. Epitop rozpoznávaný anti-EGFR (5B7) je spojen s vnitřní doménou EGFR, a proto barvení EGFR s protilátkami rozpoznávajícími extracelulární domény nemusí vždy korelovat s barvením CONFIRM anti-EGFR (5B7).

EGFR je člen rodiny receptorů tyrosinkinázy HER. EGFR, který je znám také jako HER 1, strukturálně souvisí s HER 2, HER 3 a HER 4. Členové této rodiny proteinů jsou schopni vytvářet heterodimery ke zprostředkování přenosu signálu. EGFR vykazuje nízkou expresi ve většině epitelálních tkání; k jeho nadměrné expresi však může docházet při rakovině prsu, mozku, močového měchýře, plic, žaludku, hlavy a krku, jícnu, cervixu, vaječnících, endometria a zejména u skvamózních karcinomů.<sup>1</sup>

V testech Western blot buněk A431 rozpoznává králičí monoklonální anti-EGFR (5B7) divoký typ EGFR Mr 170 kD. Specifita EGFR byla potvrzena studii inhibice peptidů, ve kterých byla protilátka inkubována se syntetickým peptidem EGFR. Peptid inhiboval navázání protilátky na EGFR ve tkáni. Typ barvení buněk pro EGFR je membránové a cytoplazmové barvení.

### DODANÁ ČINIDLA

CONFIRM anti-EGFR (5B7) obsahuje dostatek činidla pro barvení 50 sklíček.

1 ks – 5 mL dávkovač CONFIRM anti-EGFR (5B7) obsahuje přibližně 2 µg králičí monoklonální protilátky.

Protilátka je zředěna 0,05 M Tris-HCl s 2 % proteinového nosiče a 0,10 % konzervační látky ProClin® 300, obsahující aktivní složky 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on a 2-methyl-4-isothiazolin-3-on.

Celková proteinová koncentrace reagens činidla je asi 10,5 µg / mL. Koncentrace specifické protilátky je asi 0,4 µg / mL. V tomto produktu není známa žádná irelevantní reaktivita protilátky.

Ze zásobního roztoku je zde přítomna stopa (asi 2 %) fetálního telecího séra, původem z USA.

V příbalové informaci k příslušné detekční soupravě Ventana jsou podrobně popsána následující témata: (1) principy a postupy, (2) potřebné materiály a činidla, které nejsou součástí dodávky, (3) příprava vzorku, (4) kontrola kvality, (5) odstraňování problémů, (6) interpretace barvení a (7) všeobecná omezení.

### POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Součástí dodávky nejsou barvicí činidla jako detekční soupravy Ventana (např. *ultraView™* Universal DAB Detection Kit), činidla pro negativní kontrolu králičího původu a pomocné komponenty, jako jsou sklíčka s tkáněmi pro negativní a pozitivní kontrolu.

### SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2–8 °C. Nezmrazovat.

K zajištění správné funkce reagentie a stability protilátky musí být dávkovač po každém cyklu uzavřen víčkem a okamžitě umístěn ve vertikální poloze do lednice.

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po uplynutí data expirace.

### PŘÍPRAVA VZORKU

Pro použití s touto primární protilátkou při zpracování detekčními soupravami Ventana na barvicích automatech Ventana jsou vhodné tkáně, zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Doporučený fixační prostředek je 10 % neutrální pufovaný formalin.<sup>2</sup> Doporučuje se tepelně indukované vyhledávání epitopů se zásaditým puforem (pH cca 8,0). V zájmu zachování antigenosti nařezaných tkáňových řezů se musí řezy tkání barvit okamžitě.

Tento produkt nejeví žádné zjevné známky nestability, a proto by se pozitivní a negativní kontroly měly provádět současně s neznámými vzorky.

### UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. K diagnostice *in vitro*.
2. Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicí. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
3. Zamezte mikrobiologické kontaminaci činidlem.
4. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.
5. Činidlo obsahuje konzervační prostředek ProClin 300. Symptomy nadměrné expozice prostředku ProClin 300 zahrnují podráždění kůže a očí a podráždění sliznic a horních dýchacích cest. Koncentrace prostředku ProClin 300 v tomto výrobku je rovna nebo nižší než 0,10 %, a nenapňuje tak kritéria OSHA pro nebezpečnou látku. U citlivých jedinců se mohou vyskytnout systémové alergické reakce.

### POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty za účelem použití v barvicích automatech Ventana ve spojení s detekčními soupravami a příslušenstvím výrobce Ventana. V tabulce 1 níže je uveden doporučený protokol barvení pro řadu BenchMark® Series se soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500). Parametry automatických procedur lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupu uvedeného v návodu k obsluze přístroje. Další informace o postupech imunohistochemického barvení jsou uvedeny v příbalové informaci k soupravě *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500).

**Tabulka 1.** Doporučený protokol barvení pro CONFIRM anti-EGFR (5B7) se soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit pro řadu BenchMark Series

Typ postupu	Způsob
	<b>BenchMark Series</b>
<b>Odstraňování parafínu</b>	Zvoleno
<b>Cell Conditioning (odmaskování antigenu)</b>	Cell Conditioning 1, standardní
<b>Enzym (proteáza)</b>	Není vyžadováno
<b>Protilátka (primární)</b>	Přibližně 16 minut při 37 °C
<b>Ultra Wash</b>	Volitelné
<b>Kontrastní barvivo</b>	Hematoxylin II, 2 až 4 minuty
<b>Po kontrastním barvení</b>	Bluing, 2 až 4 minuty

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání může být potřeba prodloužit nebo zkrátit inkubaci primární protilátky, cell conditioning nebo přípravu proteázy podle konkrétních vzorků a způsobů detekce. Další informace o proměnných souvisejících s fixací viz „Immunohistochemistry Principles and Advances“.<sup>3</sup>

## TKÁŇ PRO POZITIVNÍ KONTROLU

Příklady tkáně pro pozitivní kontrolu pro CONFIRM anti-EGFR (5B7) jsou kůže, nemalobuněčný karcinom plic (uvedený na obrázku výše) a placenta. V kůži může dojít k pozitivnímu zbarvení membrán a cytoplazmy bazálních epitelálních buněk, exokrinních potních žláz, mazových žláz, kožních fibroblastů a perineuria. Pozitivně se barví syncytiotrofoblasty placenty.

## INTERPRETACE BARVENÍ

Typ barvení buněk pro EGFR je membránové a cytoplazmové barvení.

## SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka byla optimalizována pro dobu inkubace 16 minut na BenchMark XT v kombinaci se soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500); validaci použití tohoto činidla však musí provést uživatel.

## CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

1. Specificita protilátky CONFIRM anti-EGFR (5B7) byla stanovena testováním normálních a neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Výsledky u normálních tkání jsou následující: nadledvinka (0/1), kostní dřev (0/3), velký mozek (0/3), malý mozek (3/3), prs (3/3), cervix (0/3), tračník (3/3), jícen (3/3), srdce (2/3), střevo (3/3), ledvina (0/3), játra (0/3), plíce (3/3), lymfatická uzlina (0/3), mezotel (2/3), nerv (0/3), vaječník (2/3), slinivka břišní (0/2), přišitné tělísko (0/3), hypofýza (1/3), prostata (0/2), slinná žláza (0/3), kůže (3/3), slezina (1/3), žludek (0/3), příčně pruhovaný sval (0/2), varle (0/2), brzlík (3/3), štítná žláza (0/3), tonzila (3/3) a děloha (0/3). Výsledky u neoplastických tkání jsou následující: Atypický meningiom (1/1), glioblastom (1/1), ependymom (0/1), oligodendrogliom (1/1), papilární serózní adenokarcinom ovarií (0/1), papilární mucinózní adenokarcinom ovarií (1/1), karcinom ostrůvkových buněk (0/1), adenokarcinom pankreatu (1/1), seminom varlete a embryonální karcinom (0/2), medulární karcinom štítné žlázy (0/1), papilární karcinom štítné žlázy (1/1), intraduktální, lobulární a infiltrující karcinom prsu (0/3), difuzní lymfom B-buněk ve slezině (0/1), malobuněčný karcinom plic (0/1), skvamózní karcinom plic (0/1), adenokarcinom plic (1/1), skvamózní karcinom a adenokarcinom jícnu (2/2), adenokarcinom žaludku (0/1), adenokarcinom a mesenchymom střeva (2/2), kolorektální adenokarcinom a mesenchymom (2/4), hepatocelulární karcinom (1/1), hepatoblastom (0/1), adenokarcinom prostaty (0/1), karcinom z přechodného epitelu v prostatě (1/1), leiomyom dělohy (0/1), karcinom endometria (1/1), clear-cell a skvamózní karcinom dělohy (0/3), embryonální rhabdomyosarkom (0/1), melanom rekta (0/1), bazocelulární karcinom (0/1), Hodgkinův lymfom (0/1) a lymfom difuzního typu (0/2).
2. K vyhodnocení citlivosti byla použita skupina nemalobuněčných karcinomů plic (NSCLC), která byla barvena na BenchMark XT s CONFIRM anti-EGFR (5B7), přičemž 32 ze 47 případů (68 %) zbarvení bylo pozitivních na EGFR. Tento výsledek se shoduje s publikovanou expresí EGFR u NSCLC.<sup>4</sup>
3. Reprodukovatelnost mezi šaržemi byla zjišťována testováním tří šarží CONFIRM anti-EGFR (5B7) se čtyřmi tkáňovými vzorky reprezentujícími dynamický rozsah exprese EGFR na BenchMark XT. Tři ze tří testovaných šarží vykazovaly rovnoměrná skóre pro všechny čtyři tkáňové vzorky.
4. CONFIRM anti-EGFR (5B7) je kompatibilní s přístrojovými systémy NexES®, BenchMark a BenchMark XT a s detekčními soupravami *VIEW™* DAB, Enhanced Alkaline Phosphatase Red, *ultraView* Universal DAB a *ultraView* Universal Red.

## REFERENCE

1. Ciardello F, Tortora G. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: understanding the role of receptor expression and the other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs. *Eur J Cancer* 39: 1348-54, 2003.
2. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
3. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.
4. Selvaggi G, Novello S, Torri V, Leonardo E, De Giulii P, Borasio P, Mossetti C, Ardisson F, Lausi P, Scagliotti GV. Epidermal growth factor receptor overexpression correlates with a poor prognosis in completely resected non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 15(1):28-32, 2004.

## DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

CONFIRM, *ultraView*, *VIEW*, BenchMark, NexES a Ventana jsou ochranné známky společnosti Ventana Medical Systems, Inc.; značka CONFIRM® je registrována v USA; značka BenchMark® je registrována v USA, v Evropském společenství a v Japonsku; značka NexES® je registrována v Austrálii, v Kanadě, v Evropském společenství, ve Francii, v Německu, v Itálii, ve Španělsku, ve Velké Británii a v USA; a značka Ventana® je registrována v USA, v Austrálii, v Evropském společenství, ve Francii, v Německu, v Itálii, v Japonsku, ve Španělsku a ve Velké Británii.

Ventana poskytuje kupujícímu jednorázovou licenci v souladu s následujícími patenty: Patent USA, č. 6045759, 6192945, 6416713, 6945128 a zahraniční stejnopisy.

ProClin® je registrovaná ochranná známka společnosti Rohm and Haas Company.

**KONTAKTNÍ INFORMACE**

Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755

USA

+1 520 887 2155

+1 800 227 2155 (USA)



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



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany