

# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Thyroid Transcription Factor-1

**Product Code: NCL-L-TTF-1**

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



EN FR IT DE ES PT SV EL DA

## 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.

## 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.



# Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody

## Thyroid Transcription Factor-1

### Product Code: NCL-L-TTF-1

#### Intended Use

*For in vitro diagnostic use.*

NCL-L-TTF-1 is intended for the qualitative identification by light microscopy of Thyroid Transcription Factor-1 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

SPT24

#### Immunogen

Prokaryotic recombinant protein corresponding to a 123 amino acid fragment of the N-terminal region of the TTF-1 molecule.

#### Specificity

Human thyroid transcription factor-1 (TTF-1).

#### Reagent Composition

NCL-L-TTF-1 is a liquid tissue culture supernatant containing 15 mM sodium azide as a preservative.

#### Ig Class

IgG1, kappa

#### Total Protein Concentration Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

#### Antibody Concentration

Greater than or equal to 67.5 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, RE7113.

**Suggested dilution:** 1:200 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 Microsystems, or alternatively, visit the Leica Microsystems Web site, [www.leica-microsystems.com](http://www.leica-microsystems.com)

#### 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.

The molarity of sodium azide in this reagent is 15 mM. A Material Safety Data Sheet (MSDS) is available upon request for sodium azide. Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

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

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

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

## Quality Control

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

Controls should be fresh 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 thyroid.

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 tonsil.

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-TTF-1 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 SPT24 detected the thyroid transcription factor-1 protein in the nucleus of follicular epithelial cells of the thyroid (13/13), type II pneumocytes and Clara cells of the lung (9/9). Some reactivity was also noted in glial cells in cerebrum (3/3).

Clone SPT24 did not stain TTF-1 in a variety of other normal tissues (n=140) including colon (0/12), brain (0/8), placenta (0/4), kidney (0/6), prostate (0/4), testis (0/4), heart (0/4), spleen (0/4), cervix (0/5), lymph node (0/2), thymus (0/13), tongue (0/1), endometrium (0/2), skeletal muscle (0/4), tonsil (0/4), salivary gland (0/4), myometrium (0/1), umbilical cord (0/1), ureter (0/1), bronchus (0/1), ovary (0/4), fallopian tube (0/1), liver (0/4), breast (0/4), esophagus (0/4), stomach (0/4), spinal cord (0/1), eye (0/1), pancreas (0/4), ileum (0/4), cecum (0/1), rectum (0/1), adrenal (0/4), mesothelium (0/1), parathyroid (0/1), peripheral nerve (0/3), pituitary (0/3), bone marrow (0/3), uterus (0/3) and skin (0/4).

### Abnormal Tissues

Clone SPT24 detected the thyroid transcription factor-1 protein in the nucleus of 26/32 lung adenocarcinoma, 4/7 lung small cell carcinoma, 2/3 lung bronchioalveolar carcinoma, 6/6 thyroid papillary carcinoma, 4/4 thyroid medullary carcinoma, 3/3 thyroid follicular carcinoma, 1/1 thyroid follicular adenoma, 1/1 Hashimoto's thyroiditis, 19/56 thymoma, 1/1 desmoplastic small round cell tumor, 3/38 moderately differentiated colon adenocarcinoma and 1/1 rectal carcinoma.

Clone SPT24 did not stain lung squamous cell carcinoma (0/18), lung large cell carcinoma (0/5), poorly differentiated colon adenocarcinoma (0/4), well differentiated colon adenocarcinoma (0/3), ungraded colon adenocarcinoma (0/3), mesothelioma (0/5), small bowel carcinoid (0/4), thymus atypical carcinoid (1/5), metastatic thymic tumor (0/1), breast tumor (0/6), liver tumor (0/8), kidney renal cell carcinoma (0/5), kidney transitional cell carcinoma (0/1), ovary thecoma (0/1), ovary granulosa cell tumor (0/1), ovary juvenile granulosa (0/1), ovary serous carcinoma (0/3), ovary mucinous carcinoma (0/2), ovary germ cell tumor (0/1), ovary clear cell carcinoma (0/1), stomach adenocarcinoma (0/4), pancreas adenocarcinoma (0/2), pancreas papillary mucinous carcinoma (0/1), pancreas islet cell tumor (0/1), pancreas glucagonoma (0/1), testis seminoma (0/3), testis mixed germ cell tumor (0/1), testis embryonal carcinoma (0/1), brain astrocytoma (0/1), brain choroid plexus papilloma (0/1), melanoma (0/3), skin basal cell carcinoma (0/1), skin squamous cell carcinoma (0/2), penis squamous cell carcinoma (0/2), esophagus squamous cell carcinoma (0/2), larynx squamous cell carcinoma (0/1), tongue squamous cell carcinoma (0/2), cervix squamous carcinoma (0/1), small bowel carcinoma (0/1), GIST (0/1), synovial sarcoma (0/1), leiomyosarcoma (0/1), Ewing's sarcoma (0/1), spindle cell rhabdomyosarcoma (0/1), omental fibrous tumor (0/1), bladder transitional cell carcinoma (0/2), bladder small cell carcinoma (0/1), large B-cell lymphoma (0/1), adrenal oncocytoma (0/2), adrenal adenoma (0/1), ganglioneuroma (0/1), prostate adenocarcinoma (0/1), benign prostatic hyperplasia (0/1), endometrial stromal sarcoma (0/1), endometrial adenocarcinoma (0/1), endometrial clear cell carcinoma (0/1), pheochromocytoma (0/1), paraganglioma (0/1) and cervix tumor (0/2).

**Thyroid Transcription Factor-1 (clone SPT24) is recommended for the identification of TTF-1 in normal and neoplastic tissues and for use in diagnosis as part of a panel of antibodies.**

## 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 et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. *Journal of Clinical Pathology*. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. *Modern Pathology*. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. *American Journal of Clinical Pathology*. 2004; 121(3):343-349.

## Amendments to Previous Issue

Total Protein Concentration, Recommendations On Use, Results Expected, Bibliography - General.

## Date of Issue

12 August 2010

# Novocastra™ Anticorps Monoclonal Liquide de Souris

## Thyroid Transcription Factor-1

### Référence du Produit: NCL-L-TTF-1

#### Utilisation Prévue

*Diagnostic in vitro.*

Le NCL-L-TTF-1 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la molécules Thyroid Transcription Factor-1 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

SPT24

#### Immunogène

Protéine recombinante prokaryotique correspondant à un fragment d'acide aminé 123 de l'extrémité N-terminale de la molécule TTF-1.

#### Spécificité

Facteur de transcription thyroïdien humain 1 (TTF-1).

#### Composition du Réactif

Le NCL-L-TTF-1 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azide de sodium 15 mM comme conservateur.

#### Classe d'Ig

IgG1, kappa

#### Concentration Totale en Protéines Total Protein

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

#### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 67,5 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.

**Restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER):** Veuillez respecter le mode d'emploi de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113.

**Dilution préconisée:** 1:200 durant 30 minutes à 25 °C. Ceci n'est donné qu'à titre indicatif et les utilisateurs doivent déterminer leurs propres dilutions de travail optimales.

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

#### 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.

Dans ce réactif, la molarité de l'azide de sodium est de 15 mM. Une fiche toxicologique (MSDS) relative à l'azide de sodium est disponible sur demande.

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 thyroïde.

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.

Les amygdales 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-TTF-1 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 Sains

Le clone SPT24 a détecté la protéine de facteur 1 de transcription de la thyroïde dans le noyau de cellules épithéliales folliculaires de la thyroïde (13/13), dans des pneumocytes de type II et des cellules de Clara du poumon (9/9). Une réactivité a également été observée dans des cellules gliales du cerveau (3/3).

Le clone SPT24 n'a pas marqué le TTF-1 dans différents autres tissus normaux (n=140), parmi lesquels le côlon (0/12), le cerveau (0/8), le placenta (0/4), les reins (0/6), la prostate (0/4), les testicules (0/4), le cœur (0/4), la rate (0/4), le col de l'utérus (0/5), le ganglion lymphatique (0/2), le thymus (0/13), la langue (0/1), l'endomètre (0/2), les muscles squelettiques (0/4), les amygdales (0/4), les glandes salivaires (0/4), le myomètre (0/1), le cordon ombilical (0/1), l'uretère (0/1), les bronches (0/1), les ovaires (0/4), les trompes de Fallope (0/1), le foie (0/4), les seins (0/4), l'œsophage (0/4), l'estomac (0/4), la moelle épinière (0/1), les yeux (0/1), le pancréas (0/4), l'iléon (0/4), le cœcum (0/1), le rectum (0/1), la glande surrénale (0/4), le mésothélium (0/1), la parathyroïde (0/1), les nerfs périphériques (0/3), la glande pituitaire (0/3), la moelle osseuse (0/3), l'utérus (0/3) et la peau (0/4).

#### Tissus Tumoraux

Le clone SPT24 a détecté la protéine de facteur 1 de transcription de la thyroïde dans le noyau de 26/32 adénocarcinomes du poumon, 4/7 carcinomes à petites cellules du poumon, 2/3 carcinomes bronchiolo-alvéolaires du poumon, 6/6 carcinomes papillaires de la thyroïde, 4/4 carcinomes médullaires de la thyroïde, 3/3 carcinomes folliculaires de la thyroïde, 1/1 adénome folliculaire de la thyroïde, 1/1 thyroïdite de Hashimoto, 19/56 thymomes, 1/1 tumeur desmoplastique à petites cellules rondes, 3/38 adénocarcinomes du côlon moyennement différenciés et 1/1 carcinome rectal.

Le clone SPT24 n'a marqué aucun(e) carcinome à cellules squameuses du poumon (0/18), carcinome du poumon à grandes cellules (0/5), adénocarcinome peu différencié du côlon (0/4), adénocarcinome bien différencié du côlon (0/3), adénocarcinome du côlon sans grade défini (0/3), mésothéliome (0/5), carcinoïde de l'intestin grêle (0/4), carcinoïde atypique du thymus (1/5), tumeur thymique métastatique (0/1), tumeur du sein (0/6), tumeur du foie (0/8), carcinome des cellules rénales du rein (0/5), carcinome à cellules transitionnelles du rein (0/1), thécome ovarien (0/1), tumeur de la granulosa de l'ovaire (0/1), granulosa juvénile de l'ovaire (0/1), carcinome séreux de l'ovaire (0/3), carcinome mucineux de l'ovaire (0/2), tumeur des cellules germinales de l'ovaire (0/1), carcinome à cellules claires de l'ovaire (0/1), adénocarcinome de l'estomac (0/4), adénocarcinome du pancréas (0/2), carcinome papillaire mucineux du pancréas (0/1), tumeur des cellules des îlots pancréatiques (0/1), glucagonome pancréatique (0/1), séminome testiculaire (0/3), tumeur mixte des cellules germinales du testicule (0/1), carcinome embryonnaire testiculaire (0/1), astrocytome du cerveau (0/1), papillome du plexus choroïde du cerveau (0/1), mélanome (0/3), carcinome à cellules basales de la peau (0/1), carcinome à cellules squameuses de la peau (0/2), carcinome à cellules squameuses du pénis (0/2), carcinome à cellules squameuses de l'œsophage (0/2), carcinome à cellules squameuses du larynx (0/1), carcinome à cellules squameuses de la langue (0/2), carcinome à cellules squameuses du col de l'utérus (0/1), carcinome de l'intestin grêle (0/1), GIST (0/1), sarcome synovial (0/1), léiomyosarcome (0/1), sarcome d'Ewing (0/1), rhabdomyosarcome à cellules fusiformes (0/1), tumeur épiloïque fibreuse (0/1), carcinome à cellules transitionnelles de la vessie (0/2), carcinome à petites cellules de la vessie (0/1), lymphome à grandes cellules B (0/1), oncocytome surrénalien (0/2), adénome surrénalien (0/1), ganglioneurome (0/1), adénocarcinome de la prostate (0/1), d'hyperplasie prostatique bénigne (0/1), sarcome stromal endométrial (0/1), adénocarcinome endométrial (0/1), carcinome à cellules claires de l'endomètre (0/1), phéochromocytome (0/1), paragangliome (0/1) ni aucune tumeur du col de l'utérus (0/2).

**Le Thyroid Transcription Factor-1 (clone SPT24) est recommandé pour l'identification de TTF-1 dans des tissus normaux et néoplasiques, et son usage est préconisé pour le diagnostic dans le cadre d'un panel d'anticorps.**

### Limites Générales

L'immunohistochimie est un processus diagnostique constitué de plusieurs étapes qui nécessitent 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, Ashcavi M et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

### Amendements Apportés à la Version Précédente

Concentration Totale en Protéines, Recommandations d'utilisation, Résultats Attendus, Bibliographie Générale.

### Date de Publication

12 août 2010



# Novocastra™ Anticorpo Monoclonale Murino Liquido

## Thyroid Transcription Factor-1

### Codice Del Prodotto: NCL-L-TTF-1

#### Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-TTF-1 è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica della molecola Thyroid Transcription Factor-1, 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

SPT24

#### Immunogeno

Proteina ricombinante procariotica, corrispondente al frammento aminoacidico 123 della regione N-terminale della molecola TTF-1.

#### Specificità

Fattore di trascrizione tiroideo-1 umano (TTF-1).

#### Composizione Del Reagente

NCL-L-TTF-1 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente 15 mM di sodio azide come conservante.

#### Classe Ig

IgG1, kappa

#### Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

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

#### Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 67,5 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 incluse in paraffina.

**Smascheramento antigenico termoiddotto (HIER):** Si prega di seguire le istruzioni per l'uso fornite in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113.

**Diluizione raccomandata:** 1:200 per 30 minuti a 25 °C. Queste raccomandazioni costituiscono delle semplici linee guida; spetta al singolo utente stabilire le diluizioni di lavoro ottimali.

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

#### 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.

La molarità della sodio azide nel reagente corrisponde a 15 mM. Su richiesta, è disponibile una scheda dei dati di sicurezza del materiale (MSDS) per la sodio azide.

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 tiroide.

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 la tonsilla.

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, polimeri marcato) e substrato cromogeno. Se nel controllo negativo del tessuto compare una colorazione specifica, i risultati sui campioni biologici ottenuti dal paziente devono essere considerati non validi.

### **Controllo Negativo Del Reagente**

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

### **Tessuto Del Paziente**

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-TTF-1. 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 SPT24 ha rilevato la proteina del fattore 1 di trascrizione tiroideo nel nucleo delle cellule epiteliali follicolari della tiroide (13/13), nei pneumociti di tipo II e nelle cellule di Clara nel polmone (9/9). È stata osservata una certa reattività anche nelle cellule gliali del cervello (3/3).

Il clone SPT24 non ha colorato il TTF-1 in diversi altri tessuti normali (n=140), compresi colon (0/12), cervello (0/8), placenta (0/4), rene (0/6), prostata (0/4), testicolo (0/4), cuore (0/4), milza (0/4), cervice uterina (0/5), linfonodo (0/2), timo (0/13), lingua (0/1), endometrio (0/2), muscolo scheletrico (0/4), tonsilla (0/4), ghiandole salivari (0/4), miometrio (0/1), cordone ombelicale (0/1), uretere (0/1), bronchi (0/1), ovaio (0/4), tube di Falloppio (0/1), fegato (0/4), mammella (0/4), esofago (0/4), stomaco (0/4), midollo spinale (0/1), occhio (0/1), pancreas (0/4), ileo (0/4), ceco (0/1), retto (0/1), surrene (0/4), mesotelio (0/1), paratiroide (0/1), nervo periferico (0/3), ipofisi (0/3), midollo osseo (0/3), utero (0/3) e pelle (0/4).

#### Tessuti tumorali

Il clone SPT24 ha rilevato la proteina del fattore 1 di trascrizione tiroideo nel nucleo di 26/32 adenocarcinomi polmonari, 4/7 carcinomi polmonari a piccole cellule, 2/3 carcinomi polmonari bronchioalveolari, 6/6 carcinomi papillari della tiroide, 4/4 carcinomi midollari della tiroide, 3/3 carcinomi follicolari tiroidei, 1/1 adenoma tiroideo follicolare, 1/1 tiroidite di Hashimoto, 19/56 timomi, 1/1 tumore desmoplastico a piccole cellule rotonde, 3/38 adenocarcinomi del colon moderatamente differenziati e 1/1 carcinoma rettale.

Il clone SPT24 non ha colorato il carcinoma a cellule squamose del polmone (0/18), carcinoma polmonare a grandi cellule (0/5), adenocarcinoma del colon scarsamente differenziato (0/4), adenocarcinoma del colon ben differenziato (0/3), adenocarcinoma del colon non classificato (0/3), mesotelioma (0/5), carcinoma dell'intestino tenue (0/4), carcinoma atipico del timo (1/5), tumore metastatico del timo (0/1), tumore della mammella (0/6), tumore del fegato (0/8), carcinoma a cellule renali del rene (0/5), carcinoma a cellule transizionali del rene (0/1), tecoma ovarico (0/1), tumore delle cellule della granulosa dell'ovaio (0/1), granulosa dell'ovaio di tipo giovanile (0/1), carcinoma ovarico sieroso (0/3), carcinoma ovarico mucinoso (0/2), tumore a cellule germinali dell'ovaio (0/1), carcinoma

ovarico a cellule chiare (0/1), adenocarcinoma dello stomaco (0/4), adenocarcinoma del pancreas (0/2), carcinoma papillare mucinoso del pancreas (0/1), tumore delle cellule insulari del pancreas (0/1), glucagonoma del pancreas (0/1), seminoma del testicolo (0/3), tumore misto a cellule germinali del testicolo (0/1), carcinoma embrionale del testicolo (0/1), astrocitoma cerebrale (0/1), papilloma del plesso corioideo cerebrale (0/1), melanoma (0/3), carcinoma a cellule basali della pelle (0/1), carcinoma a cellule squamose della pelle (0/2), carcinoma a cellule squamose del pene (0/2), carcinoma a cellule squamose dell'esofago (0/2), carcinoma a cellule squamose della laringe (0/1), carcinoma a cellule squamose della lingua (0/2), carcinoma squamoso della cervice uterina (0/1), carcinoma dell'intestino tenue (0/1), tumore stromale gastrointestinale (GIST) (0/1), sarcoma sinoviale (0/1), leiomiomasarcoma (0/1), sarcoma di Ewing (0/1), rhabdomyosarcoma a cellule fusiformi (0/1), tumore fibroso omentale (0/1), carcinoma a cellule transizionali della vescica (0/2), carcinoma a piccole cellule della vescica (0/1), linfoma a grandi cellule B (0/1), oncocitoma surrenale (0/2), adenoma surrenale (0/1), ganglioneuroma (0/1), adenocarcinoma della prostata (0/1), iperplasia prostatica benigna (0/1), sarcoma endometriale stromale (0/1), adenocarcinoma endometriale (0/1), carcinoma endometriale a cellule chiare (0/1), feocromocitoma (0/1), paraganglioma (0/1), né il tumore della cervice uterina (0/2).

**Il Thyroid Transcription Factor-1 (clone SPT24) è raccomandato per l'identificazione di TTF-1 in tessuti normali e neoplastici e per l'uso nella diagnosi come parte di un pannello di anticorpi.**

### **Limitazioni Generali**

L'immunocitochimica 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. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

### **Modifiche Alla Pubblicazione Precedente**

Concentrazione Proteca Totale, Raccomandazioni Per L'uso, Risultati Attesi, Riferimenti Bibliografici Di Base.

### **Data Di Pubblicazione**

12 agosto 2010

# Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper

## Thyroid Transcription Factor-1

### Produkt-Nr.: NCL-L-TTF-1

#### Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-TTF-1 ist für den qualitativen Nachweis der Thyroid Transcription Factor-1-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

SPT24

#### Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Protein, das einem 123-Aminosäurenfragment der N-terminalen Region des TTF-1-Moleküls entspricht.

#### Spezifität

Humaner thyroïdaler Transkriptionsfaktor 1 (TTF-1).

#### Reagenzzusammensetzung

NCL-L-TTF-1 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der 15 mmol/l Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

#### Ig-Klasse

Kappa-IgG1

#### Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

#### Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 67,5 mg/l laut ELISA-Bestimmung. Hinsichtlich der chargenspezifischen Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

#### Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten

**Hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER):** Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113 befolgen.

**Empfohlene Verdünnung:** 1:200 über einen Zeitraum von 30 Minuten bei 25°C. Dies ist nur eine Empfehlung, und die Benutzer sollten ihre eigenen optimalen Arbeitsverdünnungen bestimmen.

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

#### 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.

Die Molarität des Natriumazids in diesem Reagenz beträgt 15 mmol/l. Ein Sicherheitsdatenblatt (MSDS) für Natriumazid ist auf Anfrage erhältlich.

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

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

### **Qualitätskontrolle**

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

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

### **Positive Gewebekontrolle**

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Für die positive Gewebekontrolle wird Schilddrüsengewebe 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 Tonsillengewebe 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-TTF-1 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 SPT24 wies das Thyroid-Transkriptionsfaktor-1-Protein im Kern von Follikelepithelzellen der Schilddrüse (13/13), in Typ II Pneumozyten und Clarazellen der Lunge (9/9) nach. Eine gewisse Reaktivität wurde auch in Gliazellen im Zerebrum (3/3) beobachtet. Der Klon SPT24 färbte TTF-1 jedoch nicht in einer Reihe anderer normaler Gewebe (n=140), wie u.a. Kolon (0/12), Gehirn (0/8), Plazenta (0/4), Niere (0/6), Prostata (0/4), Hoden (0/4), Herz (0/4), Milz (0/4), Gebärmutterhals (0/5), Lymphknoten (0/2), Thymus (0/13), Zunge (0/1), Endometrium (0/2), Skelettmuskel (0/4), Mandeln (0/4), Speicheldrüse(0/4), Myometrium (0/1), Nabelschnur (0/1), Harnleiter (0/1), Bronchien (0/1), Ovarien (0/4), Eileiter (0/1), Leber (0/4), Brust (0/4), Ösophagus (0/4), Magen (0/4), Rückenmark (0/1), Auge (0/1), Pankreas (0/4), Ileum (0/4), Blinddarm (0/1), Rektum (0/1), Nebenniere (0/4), Mesothel (0/1), Nebenschilddrüse (0/1), periphere Nerven (0/3), Hypophyse (0/3), Knochenmark (0/3), Uterus (0/3) und Haut (0/4).

#### Tumorgewebe

Der Klon SPT24 wies das Thyroid-Transkriptionsfaktor-1-Protein im Kern von 26/32 Lungenadenokarzinom, 4/7 kleinzelligem Lungenkarzinom, 2/3 bronchioalveolärem Lungenkarzinom, 6/6 Papillenkarcinom der Thyroidea, 4/4 medullärem Thyroidea Karzinom, 3/3 follikulärem Thyroidea Karzinom, 1/1 follikulärem Thyroideaadenom, 1/1 Hashimoto-Thyreoiditis, 19/56 Thymom, 1/1 desmoplastischem klein- und rundzelligem Tumor, 3/38 moderat differenziertem Kolonadenokarzinom und 1/1 rektalem Karzinom nach.

Der Klon SPT24 färbte kein Lungenplattenzellkarzinom (0/18), großzelliges Lungenkarzinom (0/5), schlecht differenziertes Kolonadenokarzinom (0/4), gut differenziertes Kolonadenokarzinom (0/3), nicht eingestuftes Kolonadenokarzinom (0/3), Mesotheliom (0/5), Dünndarmkarzinoid (0/4), atypisches Thymuskarzinoid (1/5), metastatischen Thymustumor (0/1), Mammatumor (0/6), Lebertumor (0/8), Nierenzellkarzinom (0/5), Übergangszellkarzinom der Niere (0/1), Ovarialthekom (0/1), Granulosazelltumor der Ovarien (0/1), juvenile Granulosa der Ovarien (0/1), seröses Ovarialkarzinom (0/3), muzinöses Ovarialkarzinom (0/2), Ovarialkeimzelltumor (0/1), klarzelliges Ovarialkarzinom (0/1), Magenadenokarzinom (0/4), Pankreasadenokarzinom (0/2), papilläres muzinöses Pankreaskarzinom (0/1), Inselzelltumor des Pankreas (0/1), Pankreasglukagonom (0/1), Hodenseminom (0/3), gemischter Keimzelltumor des Hoden (0/1), Embryonalkarzinom des Hoden (0/1), Gehirnastrzytom (0/1), Choroidplexuspapillom des Gehirns (0/1), Melanom (0/3), Basalzellkarzinom der Haut (0/1), Plattenzellkarzinom der Haut (0/2), Plattenzellkarzinom beim Penis (0/2), Plattenzellkarzinom des Ösophagus (0/2), Plattenzellkarzinom des Larynx (0/1), Plattenzellkarzinom der Zunge (0/2), Plattenzellkarzinom des Gebärmutterhalses (0/1), Dünndarmkarzinom (0/1), GIST (0/1), Synovialsarkom (0/1), Leiomyosarkom (0/1), Ewing-Sarkom (0/1), Spindelzellrhabdomyosarkom (0/1), fibrösen Tumor beim Omentum (0/1), Übergangszellkarzinom der Blase (0/2), kleinzelliges Blasenkarzinom (0/1), großes B-Zelllymphom (0/1), Nebennierenonkozytom (0/2), Nebennierenadenom (0/1), Ganglioneurom (0/1), Prostataadenokarzinom (0/1), gutartige Prostatahyperplasie (0/1), Stromasarkom des Endometriums (0/1), Adenokarzinom des Endometriums (0/1), klarzelliges Karzinom des Endometriums (0/1), Phäochromozytom (0/1), Paragangliom (0/1) und Gebärmutterhalstumor (0/2).

**Thyroid Transcription Factor-1 (Klon SPT24) wird zur Identifizierung von TTF-1 in normalen und neoplastischen Geweben und zur Verwendung bei der Diagnose als Teil einer Gruppe von Antikörpern empfohlen.**

### **Allgemeine Beschränkungen**

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

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

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

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

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

### **Literatur - Allgemein**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

### **Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe**

Gesamtproteinkonzentration, Gebrauchsempfehlungen, Erwartete Ergebnisse, Literatur - Allgemein.

### **Ausgabedatum**

12 August 2010

# Novocastra™ Anticuerpos Monoclonal Líquidos de Ratón

## Thyroid Transcription Factor-1

### Código De Producto: NCL-L-TTF-1

#### Indicaciones De Uso

*Para uso diagnóstico in vitro.*

NCL-L-TTF-1 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de moléculas de Thyroid Transcription Factor-1. 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

SPT24

#### Inmunógeno

Proteína recombinante procarciática, correspondiente a un fragmento de 123 aminoácidos de la región N-terminal de la molécula de TTF-1.

#### Especificidad

Factor tiroideo 1 de transcripción humano (TTF-1).

#### Composición Del Reactivo

NCL-L-TTF-1 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica 15 mM como conservante.

#### Clase de Ig

IgG1, kappa

#### Concentración Total De Proteína

Total Protein

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

#### Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 67,5 mg/L según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

#### Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

**Recuperación de epítomos inducida por calor (HIER):** Por favor, siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113.

**Dilución sugerida:** 1:200 durante 30 minutos a 25°C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

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

#### 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.

La molaridad de la azida sódica en este reactivo es 15 mM. Si la solicita, existe una hoja de información sobre la seguridad del material (MSDS) azida sódica a su disposición.

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 tiroides.

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 amígdala palatina.

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-TTF-1 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 SPT24 detectó la proteína factor 1 de transcripción tiroideo en el núcleo de las células epiteliales foliculares del tiroides (13/13), así como en neumocitos tipo II y en células Clara del pulmón (9/9). Asimismo se observó cierta reactividad en las células gliales del cerebro (3/3).

El clon SPT24 no teñió el TTF-1 en una variedad de otros tejidos normales (n=140) incluido el colon (0/12), encéfalo (0/8), placenta (0/4), riñón (0/6), próstata (0/4), testículos (0/4), corazón (0/4), bazo (0/4), cervix (0/5), nódulo linfático (0/2), timo (0/13), lengua (0/1), endometrio (0/2), músculo esquelético (0/4), amígdala (0/4), glándula salival (0/4), miometrio (0/1), cordón umbilical (0/1), uréter (0/1), bronquio (0/1), ovario (0/4), trompas de Falopio (0/1), hígado (0/4), mama (0/4), esófago (0/4), estómago (0/4), médula espinal (0/1), ojo (0/1), páncreas (0/4), íleo, (0/4), intestino ciego (0/1), recto (0/1), cápsula suprarrenal (0/4), mesotelio (0/1), paratiroides (0/1), nervio periférico (0/3), pituitaria (0/3), médula ósea (0/3), útero (0/3) y la piel (0/4).

### Tejidos Tumorales

El clon SPT24 detectó la proteína factor 1 de transcripción tiroideo en el núcleo de 26/32 adenocarcinomas de pulmón, 4/7 carcinomas de pulmón de células pequeñas, 2/3 carcinomas bronquioalveolares de pulmón, 6/6 carcinomas papilares de tiroides, 4/4 carcinomas medulares de tiroides, 3/3 carcinomas foliculares de tiroides, 1/1 adenomas foliculares de tiroides, 1/1 tiroiditis de Hashimoto, 19/56 timomas, 1/1 tumores desmoplásicos de células pequeñas y redondas, 3/3 adenocarcinomas moderadamente diferenciados de colon y 1/1 carcinomas de recto.



El clon SPT24 no tiñó el carcinoma de pulmón de células escamosas (0/18), carcinoma de pulmón de células grandes (0/5), adenocarcinoma de colon poco diferenciado (0/4), adenocarcinoma de colon bien diferenciado (0/3), adenocarcinoma de colon sin grado (0/3), mesotelioma (0/5), tumor carcinoide de intestino delgado (0/4), tumor carcinoide atípico de timo (1/5), tumor tímico metastásico (0/1), tumor de mama (0/6), tumor de hígado (0/8), carcinoma de riñón de células renales (0/5), carcinoma de riñón de células transicionales (0/1), teca de ovario (0/1), tumor de células de la granulosa de ovario (0/1), granulosa tipo juvenil de ovario (0/1), carcinoma seroso ovárico (0/3), carcinoma mucinoso ovárico (0/2), tumor de ovario de células germinativas (0/1), carcinoma de células claras de ovario (0/1), adenocarcinoma de estómago (0/4), adenocarcinoma de páncreas (0/2), carcinoma mucinoso papilar de páncreas (0/1), tumor de páncreas de células insulares (0/1), glucagonoma de páncreas (0/1), seminoma de testículo (0/3), tumor de testículo de células germinativas mixtas (0/1), carcinoma embrional de testículo (0/1), astrocitoma cerebral (0/1), papiloma de plexos coroides cerebral (0/1), melanoma (0/3), carcinoma de células basales de la piel (0/1), carcinoma de células escamosas de la piel (0/2), carcinoma de pene de células escamosas (0/2), carcinoma de esófago de células escamosas (0/2), carcinoma de laringe de células escamosas (0/1), carcinoma de lengua de células escamosas (0/2), carcinoma escamoso de cervix (0/1), carcinoma de intestino delgado (0/1), tumores estromales gastrointestinales (GIST) (0/1), sarcoma sinovial (0/1), leiomiomasarcoma (0/1), sarcoma de Ewing (0/1), rhabdomyosarcoma fusocelular (0/1), tumor fibroso de epiplón (0/1), carcinoma de vejiga de células transicionales (0/2), carcinoma de vejiga de células pequeñas (0/1), linfoma de células B grandes (0/1), oncocitoma suprarrenal (0/2), adenoma suprarrenal (0/1), ganglioneuroma (0/1), adenocarcinoma de próstata (0/1), hiperplasia benigna de próstata (0/1), sarcoma estromal endometrial (0/1), adenocarcinoma endometrial (0/1), carcinoma endometrial de células claras (0/1), feocromocitoma (0/1), paraganglioma (0/1) ni el tumor de cervix (0/2).

**El Thyroid Transcription Factor-1 (clon SPT24) se recomienda para la identificación de TTF-1 en tejidos neoplásicos y normales, así como para el uso en diagnóstico como parte de un panel de anticuerpos.**

### **Limitaciones Generales**

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

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

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

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

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

### **Bibliografía - General**

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

### **Correcciones A La Publicación Anterior**

Concentración Total De Proteína, Recomendaciones De Uso, Resultados esperados, Bibliografía - General.

### **Fecha De Publicación**

12 de agosto de 2010

# Novocastra™ Anticorpo Monoclonal Líquido de Ratinho

## Thyroid Transcription Factor-1

### Código Do Produto: NCL-L-TTF-1

#### Utilização Prevista

*Para utilização em diagnósticos in vitro.*

NCL-L-TTF-1 foi concebido para efectuar a identificação qualitativa da moléculas de Thyroid Transcription Factor-1 por microscopia óptica, em secções parafinizadas. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

#### Princípio Do Procedimento

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

#### Clone

SPT24

#### Imunogénio

Proteína procariótica recombinante correspondente ao fragmento 123 amino-acídico da região N-terminal da molécula de TTF-1.

#### Especificidade

Factor 1 de transcrição da tiróide humano (TTF-1).

#### Composição Do Reagente

NCL-L-TTF-1 é o sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo 15 mM de azida de sódio como produto conservante.

#### Classe De Ig

IgG1, capa

#### Concentração Total De Proteína

Total Protein

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

#### Concentração De Anticorpo

Maior que ou igual a 67,5 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 inclusões em parafina.

**Recuperação de epitopos induzida pelo calor (HIER):** Queira seguir as instruções de utilização de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113.

**Diluição sugerida:** 1:200 durante 30 minutos a 25°C. Esta recomendação serve apenas de orientação e os utilizadores devem determinar as suas diluições óptimas de trabalho.

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

#### 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.

A molaridade da azida de sódio neste reagente é de 15 mM. Encontra-se disponível, mediante pedido, uma folha de dados de segurança de materiais (MSDS) sobre a azida de sódio.

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 tiróide.

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 a amígdala.

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-TTF-1 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 SPT24 detectou a proteína do factor de transcrição da tiróide-1 no núcleo de células epiteliais foliculares da tiróide (13/13), pneumócitos tipo II e células de Clara dos pulmões (9/9). Também se observou um certo grau de reactividade em células gliais do cérebro (3/3).

O clone SPT24 não corou o TTF-1 numa diversidade de outros tecidos normais (n=140) incluindo cólon (0/12), cérebro (0/8), placenta (0/4), rim (0/6), próstata (0/4), testículo (0/4), coração (0/4), baço (0/4), colo do útero (0/5), gânglio-linfático (0/2), timo (0/13), língua (0/1), endométrio (0/2), músculo-esquelético (0/4), amígdala (0/4), glândula salivar (0/4), miométrio (0/1), cordão umbilical (0/1), ureter (0/1), brônquio (0/1), ovário (0/4), trompa de Falópio (0/1), fígado (0/4), mama (0/4), esófago (0/4), estômago (0/4), medula espinal (0/1), olho (0/1), pâncreas (0/4), íleo (0/4), cego (0/1), recto (0/1), supra-renal (0/4), mesotélio (0/1), paratiróide (0/1), nervo periférico (0/3), hipófise (0/3), medula óssea (0/3), útero (0/3) e pele (0/4).

### Tecidos Tumorais

O clone SPT24 detectou a proteína do factor de transcrição da tiróide-1 no núcleo de 26/32 adenocarcinomas do pulmão, 4/7 carcinomas de pequenas células do pulmão, 2/3 carcinomas bronquioalveolares do pulmão, 6/6 carcinomas papilares da tiróide, 4/4 carcinomas medulares da tiróide, 3/3 carcinomas foliculares da tiróide, 1/1 adenoma folicular da tiróide, 1/1 tiroidite de Hashimoto, 19/56 timomas, 1/1 tumores desmoplásicos de células pequenas e redondas, 3/38 adenocarcinomas do cólon moderadamente diferenciados e 1/1 carcinoma rectal.

O clone SPT24 não corou o carcinoma de células pavimentosas do pulmão (0/18), carcinoma de grandes células do pulmão (0/5), adenocarcinoma do cólon mal diferenciado (0/4), adenocarcinoma do cólon bem diferenciado (0/3), adenocarcinoma do cólon não classificado (0/3), mesotelioma (0/5), carcinóide do intestino delgado (0/4), carcinóide atípico do timo (1/5), tumor tímico metastático (0/1), tumor da mama (0/6), tumor do fígado (0/8), carcinoma de células renais do rim (0/5), carcinoma de células de transição do rim (0/1), tecomoma do ovário (0/1), tumor de células da granulosa do ovário (0/1), granulosa juvenil do ovário (0/1), carcinoma de células serosas do ovário (0/3), carcinoma mucinoso do ovário (0/2), tumor de células germinativas do ovário (0/1), carcinoma de células claras do ovário (0/1), adenocarcinoma do estômago (0/4), adenocarcinoma do pâncreas (0/2), carcinoma mucinoso papilar do pâncreas (0/1), tumor das células dos ilhéus pancreáticos (0/1), glucagonoma do pâncreas (0/1), seminoma do testículo (0/3), tumor misto de células germinativas do testículo (0/1), carcinoma embrionário do testículo (0/1), astrocitoma cerebral (0/1), papiloma cerebral do plexo coróideu (0/1), melanoma (0/3), carcinoma basocelular da pele (0/1), carcinoma espinocelular da pele (0/2), carcinoma espinocelular do pênis (0/2), carcinoma espinocelular do esófago (0/2), carcinoma espinocelular da laringe (0/1), carcinoma espinocelular da língua (0/2), carcinoma pavimentoso do colo do útero (0/1), carcinoma do intestino delgado (0/1), tumor do estroma gastrointestinal (0/1), sarcoma sinovial (0/1), leiomiossarcoma (0/1), sarcoma de Ewing (0/1), rabdomiossarcoma de células fusiformes (0/1), tumor fibroso do epíplon (0/1), carcinoma das células de transição da bexiga (0/2), carcinoma de pequenas células da bexiga (0/1), linfoma de grandes células B (0/1), oncocitoma supra-renal (0/2), adenoma supra-renal (0/1), ganglioneuroma (0/1), adenocarcinoma da próstata (0/1), hiperplasia benigna da próstata (0/1), sarcoma do estroma endometrial (0/1), adenocarcinoma endometrial (0/1), carcinoma endometrial de células claras (0/1), feocromocitoma (0/1), paraganglioma (0/1) e tumor do colo do útero (0/2).

**O Thyroid Transcription Factor-1 (clone SPT24) é recomendado para a identificação do TTF-1 em tecidos normais e neoplásicos e para uso em diagnóstico como parte de um painel de anticorpos.**

### **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 et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

### **Emendas Da Edição Anterior**

Concentração Total De Proteína, Recomendações Sobre A Utilização, Resultados Previstos, Bibliografia - Geral.

### **Data De Emissão**

12 de agosto de 2010

# Novocastra™ Flytande Monoklonal Musantikropp

## Thyroid Transcription Factor-1

### Produktkod: NCL-L-TTF-1

#### **Avsedd Användning**

*För in vitro diagnostisk användning.*

NCL-L-TTF-1 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av Thyroid Transcription Factor-1-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**

SPT24

#### **Immunogen**

Prokaryotiskt rekombinant protein som motsvarar ett 123 aminosyrefragment i TTF-1-molekylens N-terminal-område.

#### **Specifitet**

Human sköldkörteltranskriptionsfaktor 1 (TTF-1).

#### **Reagensinnehåll**

NCL-L-TTF-1 är en flytande supernatant från vävnadsodling som innehåller 15 mM natriumazid som konserveringsmedel.

#### **Ig-klass**

IgG1, kappa

#### **Total Proteinkoncentration** Total Protein

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

#### **Antikropps-koncentration**

Större än eller lika med 67,5 mg/l fastställt genom ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

#### **Rekommendationer Vid Användning**

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

**Värmeinducerad epitopåtervinning (HIER):** Vänligen följ instruktionerna för användning i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113.

**Föreslagen spädning:** 1:200 i 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

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

#### **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 Prov**

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffininbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

#### **Varningar Och Försiktighetsåtgärder**

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

Natriumazidens molaritet i reagenset är 15 mM. Varuinformationsblad (MSDS) för natriumazid finns att få på begäran.

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

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

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

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

## Kvalitetskontroll

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

Kontroller bör vara färska 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>

Sköldkörtel 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 målantigen med den primära antikroppen.

Tonsill 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 fångar 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 peroxididas (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-TTF-1 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrunds-färgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en antikroppspanel för att identifiera falskt negativa reaktioner.

## Förväntade Resultat

### Normala vävnader

Klon SPT24 detekterade tyroid transkriptionsfaktor-1-protein i cellkärnan hos folliklepitelceller i sköldkörteln (13/13) samt typ II-pneumocyter och Clara-celler i lunga (9/9). Viss reaktivitet sågs även i gliaceller i storhjärnan (3/3).

Klon SPT24 färgade inte TTF-1 i en rad andra normala vävnader (n=140) såsom kolon (0/12), hjärna (0/8), placenta (0/4), njure (0/6), prostata (0/4), testikel (0/4), hjärta (0/4), mjälte (0/4), livmoderhals (0/5), lymfkörtel (0/2), tymus (0/13), tunga (0/1), endometrium (0/2), skelettmuskulatur (0/4), tonsill (0/4), spottkörtel (0/4), myometrium (0/1), navelsträng (0/1), urinledare (0/1), bronk (0/1), äggstock (0/4), äggledare (0/1), lever (0/4), bröst (0/4), matstrupe (0/4), magsäck (0/4), ryggmärg (0/1), öga (0/1), pankreas (0/4), ileum (0/4), blindtarm (0/1), rektum (0/1), binjure (0/4), mesotel (0/1), bisköldkörtel (0/1), perifer nerv (0/3), hypofys (0/3), benmärg (0/3), uterus (0/3) och hud (0/4).

### Tumörvävnader

Klon SPT24 detekterade tyroid transkriptionsfaktor-1-protein i cellkärnan hos 26/32 adenokarcinom i lunga, 4/7 småcelliga karcinom i lunga, 2/3 bronkioalveolära karcinom i lunga, 6/6 papillära karcinom i sköldkörtel, 4/4 medullära karcinom i sköldkörtel, 3/3 follikulära karcinom i sköldkörtel, 1/1 follikulärt adenom i sköldkörtel, 1/1 Hashimoto's tyreoidit, 19/56 tymom, 1/1 desmoplastisk småcellig rundcellstumör, 3/38 måttligt differentierade adenokarcinom i kolon, samt 1/1 karcinom i rektum.

Klon SPT24 färgade inte skivepitelskarcinom i lunga (0/18), storcelliga karcinom i lunga (0/5), lågt differentierade adenokarcinom i kolon (0/4), högt differentierade adenokarcinom i kolon (0/3), oklassificerade adenokarcinom i kolon (0/3), mesoteliom (0/5), karcinoid i tunntarmen (0/4), atypisk karcinoid i tymus (1/5), metastaserande tumör i tymus (0/1), brösttumör (0/6), levertumör (0/8), renalcellskarcinom i njure (0/5), övergångsepitelkarcinom i njure (0/1), tekombiomedel (0/1), granulosaacellstumör i äggstock (0/1), juvenil granulosaacellstumör i äggstock (0/1), seröst karcinom i äggstock (0/3), mucinöst karcinom i äggstock (0/2), germinalcellstumör i äggstock (0/1), klarcellskarcinom i äggstock (0/1), adenokarcinom i magsäck (0/4), adenokarcinom i pankreas (0/2), papillära mucinösa karcinom i pankreas (0/1), öcellstumör i pankreas (0/1), glukagonom i pankreas (0/1), seminom i testikel (0/3), blandad germinalcellstumör i testis (0/1), embryonalt karcinom i testis (0/1), astrocytom i hjärna (0/1), plexus koroidea-papillom i hjärna (0/1), melanom (0/3), basalcellkarcinom i hud (0/1), skivepitelkarcinom i hud (0/2), skivepitelkarcinom i penis (0/2), skivepitelkarcinom i matstrupe (0/2), skivepitelkarcinom i struphuvud (0/1), skivepitelkarcinom i tunga (0/2), skivepitelkarcinom i livmoderhals (0/1), karcinom i tunntarm (0/1), gastrointestinal stromatumör (GIST) (0/1), synovialsarkom (0/1), leiomyosarkom (0/1), Ewings sarkom (0/1), spolcellshabdomyosarkom (0/1), fibrös tumör i bukhinnan (0/1), övergångsepitelkarcinom i urinblåsa (0/2), småcelligt karcinom i urinblåsa (0/1), storcelligt B-cellslymfom (0/1), onkocytom i binjure (0/2), adenom i binjure (0/1), ganglioneurom (0/1), adenokarcinom i prostata (0/1), godartad prostatahyperplasi (0/1), stromasarkom i livmoderslemhinna (0/1), adenokarcinom i livmoderslemhinna (0/1), klarcellskarcinom i

livmoderslemhinna (0/1), feokromocytom (0/1), paragangliom (0/1) samt tumör på livmoderhalsen (0/2).

**Thyroid Transcription Factor-1 (klon SPT24) rekommenderas för påvisande av TTF-1 i normala och neoplastiska vävnader samt som en av en uppsättning antikroppar för diagnostik.**

### Allmänna Begränsningar

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

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

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

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

Antikroppar från Leica Biosystems Newcastle Ltd är till för användning så som anges på antingen frysta eller paraffinbäddade snitt med specifika fixeringskrav. 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 pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

### Rättelser Av Tidigare Utgivning

Total Proteinkoncentration, Rekommendationer Vid Användning, Förväntade Resultat, Bibliografi - Allmän.

### Utgivningsdatum

12 augusti 2010

# Novocastra™ Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Thyroid Transcription Factor-1 Κωδικός είδους: NCL-L-TTF-1

## Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το NCL-L-TTF-1 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρώπινης Μόρια Thyroid Transcription Factor-1 σε τομές παραφίνης. Η κλινική εμπειρία 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 ανιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υποστρώμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του ανιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε αντίχρωση και να καλυφθεί με κάλυπτρα. 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

SPT24

## Ανοσογόνο

Προκαρυστική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που αντιστοιχεί σε ένα θραύσμα 123 αμινοξέων της N-τελικής περιοχής του μορίου του TTF-1.

## Ειδικότητα

Ανθρώπινος παράγοντας μεταγραφής θυρεοειδούς (TTF-1).

## Σύνθεση Αντιδραστηρίου

Το NCL-L-TTF-1 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει 15 mM αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

## Τάξη Ig

IgG1, κ.

## Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Total Protein

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

## Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 67,5 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 παρασκευάσματα παραφίνης.

**Ανάκτηση Επίτοπου με Θερμική Επαγωγή (HIER):** Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες για τη χρήση στο Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113.

**Προτεινόμενη διάλυση:** 1:200 επί 30 λεπτά σε 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους διαλύσεις εργασίας.

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

## 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.

Η μοριακότητα του αζίδιου του νατρίου στο αντιδραστήριο αυτό είναι 15 mM. Κατόπιν αιτήματος, διατίθεται ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού (MSDS) για το αζίδιο του νατρίου.

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

Ο χειρισμός δείγμάτων, 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 αφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.

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



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

## Ποιοτικός Έλεγχος

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

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

## Θετικός Μάρτυρας Ιστού

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

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

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

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι ο θυρεοειδής.

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 επισήμανσης του αντιγόνου-στόχου από το πρωτοπαγές αντίσωμα.

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι η αμυγδαλή.

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

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

## Αρνητικός Μάρτυρας 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-TTF-1. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβιβάζοντας τον 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

Ο κλώνος SPT24 ανίχνευσε την πρωτεΐνη του παράγοντα-1 μεταγραφής θυρεοειδούς στον πυρήνα των θυλακωδών επιθηλιακών κυττάρων του θυρεοειδούς (13/13), των πνευμονοκυττάρων τύπου II και των κυττάρων Clara του πνεύμονα (9/9). Κάποια αντιδραστικότητα παρατηρήθηκε επίσης στα γλοιοκύτταρα του εγκεφάλου (3/3).

Ο κλώνος SPT24 δεν πέτυχε χρώση του TTF-1 σε μια ποικιλία άλλων φυσιολογικών ιστών (n=140), συμπεριλαμβανομένων αυτών του παχέος εντέρου (0/12), του εγκεφάλου (0/8), του πλακούντα (0/4), των νεφρών (0/6), του προστάτη (0/4), των ορχέων (0/4), της καρδιάς (0/4), του σπλήνα (0/4), του τραχήλου (0/5), των λεμφαδένων (0/2), του θύμου αδένος (0/13), της γλώσσας (0/1), του ενδομητρίου (0/2), των σκελετικών μυών (0/4), των αμυγδαλών (0/4), των σιελογόνων αδένων (0/4), του μυομητρίου (0/1), του ομφάλιου λώρου (0/1), των ουρητήρων (0/1), των βρόγχων (0/1), των ωοθηκών (0/4), των σαλπγγών (0/1), του ήπατος (0/4), των μαστών (0/4), του οισοφάγου (0/4), του στομάχου (0/4), του νωτιαίου μυελού (0/1), των οφθαλμών (0/1), του παγκρέατος (0/4), του ελκείου (0/4), του πυλφού (0/1), του ορθού (0/1), των επιπεφυκιδίων (0/4), του μεσοθελίου (0/1), του παραθυρεοειδούς (0/1), των περιφερικών νεύρων (0/3), της υπόφυσης (0/3), του μυελού των οστών (0/3), της μήτρας (0/3) και του δέρματος (0/4).

### Νεοπλασματικοί Ιστοί

Ο κλώνος SPT24 ανίχνευσε την πρωτεΐνη του παράγοντα-1 μεταγραφής θυρεοειδούς στον πυρήνα 26/32 αδενοκαρκινωμάτων του πνεύμονα, 4/7 μικροκυτταρικών καρκινωμάτων του πνεύμονα, 2/3 βρογχοκυψελιδικών καρκινωμάτων του πνεύμονα, 6/6 θυρεοειδικών θηλωματωδών καρκινωμάτων, 4/4 μυελοειδών καρκινωμάτων του θυρεοειδούς, 3/3 θυρεοειδικών θυλακωδών καρκινωμάτων, 1/1 θυρεοειδικών θυλακωδών αδενωμάτων, 1/1 θυρεοειδίτιδας του Hashimoto, 19/56 θυμωμάτων, 1/1 δεσμοπλαστικών μικροστρωγλοκυτταρικών όγκων, 3/3 μετρίως διαφοροποιημένων αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου και 1/1 καρκινωμάτων του ορθού.

Ο κλώνος SPT24 δεν πέτυχε χρώση του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του πνεύμονα (0/18), του μεγαλοκυτταρικού καρκινώματος του πνεύμονα (0/5), του πτωχά διαφοροποιημένου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (0/4), του καλά διαφοροποιημένου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (0/3), του μη διαβαθμισμένου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (0/3), του μεσοθηλιακού καρκινώματος (0/5), του καρκινοειδούς του λεπτού εντέρου (0/4), του άτυπου καρκινοειδούς του θύμου αδένος (1/5), του μεταστατικού θηκωκού όγκου (0/1), του όγκου του μαστού (0/6), του ηπατικού όγκου (0/8), του νεφροκυτταρικού καρκινώματος (0/5), του μεταβατικού νεφροκυτταρικού καρκινώματος (0/1), του θηκώματος της ωοθήκης (0/1), του κοκκιοκυτταρικού όγκου της ωοθήκης

(0/1), του κοκκιοκυτταρικού ωθητικού όγκου νεανικού τύπου (0/1), του ορώδους ωθητικού καρκινώματος (0/3), του βλεννώδους ωθητικού καρκινώματος (0/2), του ωθητικού όγκου βλαστικών κυττάρων (0/1), του ωθητικού διαυγοκυτταρικού καρκινώματος (0/1), του αδενοκαρκινώματος του στομάχου (0/4), του αδενοκαρκινώματος του παγκρέατος (0/2), του θηλωματώδους βλεννώδους καρκινώματος του παγκρέατος (0/1), του όγκου παγκρεατικών νησιδοκυττάρων (0/1), του παγκρεατικού γλυκαγονώματος (0/1), του σεμινώματος του όρχεως (0/3), του μεικτού όγκου βλαστικών κυττάρων του όρχεως (0/1), του εμβρυϊκού καρκινώματος των όρχεων (0/1), του εγκεφαλικού αστροκυττώματος (0/1), του εγκεφαλικού θηλώματος του χοριοειδούς πλεγματος (0/1), του μελανώματος (0/3), του βασικοκυτταρικού καρκινώματος του δέρματος (0/1), του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του δέρματος (0/2), του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του πέους (0/2), του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του οισοφάγου (0/2), του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του λάρυγγα (0/1), του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος της γλώσσας (0/2), του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του τραχήλου (0/1), του καρκινώματος του λεπτού εντέρου (0/1), των στρωματικών όγκων του γαστρεντερικού (GIST) (0/1), του αρθρικού σαρκώματος (0/1), του λειομυοσαρκώματος (0/1), του σαρκώματος Ewing (0/1), του τρακτοκυτταρικού ραβδομυοσαρκώματος (0/1), του ινώδους όγκου του επίπλου (0/1), του καρκινώματος μεταβατικών κυττάρων της ουροδόχου κύστης (0/2), του μικροκυτταρικού καρκινώματος της ουροδόχου κύστης (0/1), του λεμφώματος εκ μεγάλων Β κυττάρων (0/1), του επινεφριδικού ογκοκυττώματος (0/2), του επινεφριδικού αδενώματος (0/1), του γαγγλιονευρώματος (0/1), του αδενοκαρκινώματος του προστάτη (0/1), της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη (0/1), του στρωματικού σαρκώματος του ενδομητρίου (0/1), του αδενοκαρκινώματος του ενδομητρίου (0/1), του διαυγοκυτταρικού καρκινώματος του ενδομητρίου (0/1), του φαιοχρωμοκυττώματος (0/1), του παραγαγγλίου (0/1) και του όγκου του τραχήλου (0/2).

**To Thyroid Transcription Factor-1 (κλώνος SPT24) συνιστάται για την ταυτοποίηση του TTF-1 σε φυσιολογικούς και νεπλασματικούς ιστούς, καθώς και για χρήση κατά τη διάγνωση στο πλαίσιο μιας σειράς αντισωμάτων.**

## Γενικοί Περιορισμοί

Η ανασοϊστοχημία 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, κατάμυξη, απόψη, πλύση, στέγνωμα, θέρμανση, τομή ή μόλυψη 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 αντιώματα που παρέχονται από την Leica Biosystems Newcastle Ltd προορίζονται για χρήση, όπως υποδεικνύεται, είτε σε κατεψυγμένες είτε σε εγκλισημένες σε παραφίνη τομές, με ειδικές απαιτήσεις μονιμοποίησης. Ενδέχεται να παρουσιαστεί μη αναμενόμενη έκφραση αντιγόνου, ειδικά σε νεοπλάσματα. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρωματισμένης τομής ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων μάρτυρων.

## 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 et al. 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. Berghmans T, Mascoux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

## Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης, Συστάσεις Για Τη Χρήση, Αναμενόμενα Αποτελέσματα, Βιβλιογραφία - Γενική.

## Ημερομηνία Έκδοσης

12 Αυγούστου 2010

# Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof

## Thyroid Transcription Factor-1

### Produktkode: NCL-L-TTF-1

#### Tilsigtet Anvendelse

*Til in vitro diagnostisk anvendelse.*

NCL-L-TTF-1 er beregnet til kvalitativ identifikation af Thyroid Transcription Factor-1-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

Immunhistokemiske (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel tilsætning af et specifikt antistof mod antigenet (primært antistof), et sekundært antistof mod det primære antistof og et enzym kompleksbundet til et 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

SPT24

#### Immunogen

Prokaryot rekombinant protein svarende til et 123 aminosyrefragment af den N-terminale region af TTF-1-molekylet.

#### Specifitet

Human thyroideatranskriptionsfaktor 1 (TTF-1).

#### Reagenssammensætning

NCL-L-TTF-1 er en flydende vævskultursupernatant indeholdende 15 mM natriumazid som konserveringsmiddel.

#### Ig-klasse

IgG1, kappa

#### Totalproteinkoncentration

Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

#### Antistofkoncentration

Større end eller lig med 67,5 mg/l som bestemt ved ELISA. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

#### Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

**Varmeinduceret epitopgenfinding (HIER):** Følg venligst vejledningen i Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6, RE7113.

**Foreslået fortynding:** 1:200 ved 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjer er vejledende, og brugeren bør selv bestemme egne optimale brugsopløsninger.

**Visualisering:** Følg venligst vejledningen i Novolink™ Polymer Detection Systems. Yderligere produktinformation og support fås ved henvendelse til lokal forhandler eller Leica-Microsystems regionskontor - samt på vores hjemmeside: [www.leica-microsystems.com](http://www.leica-microsystems.com)

#### 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.

Molariteten af natriumazid i dette reagens er 15 mM. Der kan efter anmodning leveres et datablad for materialesikkerhed (MSDS) for natriumazid.

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 thyroidea.

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 tonsil.

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 diffus 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 muligvis bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet.

## Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-TTF-1 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 SPT24 påviste thyroidea transkriptionsfaktor-1 protein i kernen af follikulære epitelceller fra thyroidea (13/13), type II pneumocytter og Clara-celler fra lungen (9/9). En vis reaktivitet blev ligeledes bemærket i gliaceller i cerebrum (3/3).

Klon SPT24 farvede ikke TTF-1 i en række forskellige andre normale væv (n=140) inklusive colon (0/12), hjerne (0/8), placenta (0/4), nyre (0/6), prostata (0/4), testis (0/4), hjerte (0/4), milt (0/4), cervix (0/5), lymfeknude (0/2), thymus (0/13), tunge (0/1), endometrium (0/2), skeletmuskul (0/4), tonsil (0/4), spytkirtel (0/4), myometrium (0/1), navlestreng (0/1), uretre (0/1), bronkus (0/1), ovarie (0/4), æggeleder (0/1), lever (0/4), bryst (0/4), esophagus (0/4), mave (0/4), rygmarv (0/1), øje (0/1), pancreas (0/4), ileum (0/4), cecum (0/1), rektum (0/1), binyre (0/4), mesotel (0/1), biskjoldbruskirtel (0/1), perifere nerver (0/3), hypofyse (0/3), knoglemarv (0/3), uterus (0/3) og hud (0/4).

### Tumorer

Klon SPT24 påviste thyroidea transkriptionsfaktor-1 protein i kernen af 26/32 lungeadenocarcinomer, 4/7 småcelle-carcinom i lungerne, 2/3 bronchoalveolære lungecarcinomer, 6/6 papillært thyroidea-carcinom, 4/4 medullært thyroidea-carcinom, 3/3 follikulært thyroidea-carcinom, 1/1 follikulært thyroideaadenom, 1/1 Hashimotos thyroiditis, 19/56 thymom, 1/1 desmoplastisk små-rundcellet tumor, 3/38 moderat differentieret adenocarcinom i colon og 1/1 rektalcarcinom.

Klon SPT24 farvede ikke lungepladecellecarcinom (0/18), storcellet lungeadenocarcinom (0/5), dårligt differentieret adenocarcinom i colon (0/4), veldifferentieret adenocarcinom i colon (0/3), ugraderet adenocarcinom i colon (0/3), mesotheliom (0/5), tyndtarmscarcinoid (0/4), atypisk carcinoid i thymus (1/5), metastatisk tumor i thymus (0/1), brysttumor (0/6), lever tumor (0/8), nyrecellecarcinom (0/5), nyreovergangscellecarcinom (0/1), ovarietekom (0/1), granulosa-celle tumor i ovarie (0/1), juvenil granulosa-celle tumor i ovarie (0/1), serøst ovariecarcinom (0/3), mucinøst ovariecarcinom (0/2), kimmelceller i ovarie (0/1), klarcellecarcinom i ovarie (0/1), adenocarcinom i mave (0/4), adenocarcinom (0/2), papillært mucinøst carcinom i pancreas (0/1), ø-celle tumor (0/1), glucagonom i pancreas (0/1), testisseminom (0/3), blandet kimmelceller i testis (0/1), testikulært embryonalt carcinom (0/1), hjerneastrocytom (0/1), choroid plexus papilloma i hjerne (0/1), melanom (0/3), basalcellecarcinom i hud (0/1), pladecellecarcinom i hud (0/2), pladecellecarcinom i penis (0/2), pladecellecarcinom i esophagus (0/2), pladecellecarcinom i larynx (0/1), pladecellecarcinom i tunge (0/2), pladecellecarcinom i cervix (0/1), tyndtarmscarcinom (0/1), GIST (0/1), synovialt sarkom (0/1), leiomyosarkom (0/1), Ewings sarkom (0/1), spindelcelle-rhabdomyosarkom (0/1), omental fibrøs tumor (0/1), transitionscellecarcinom i blære (0/2), småcellet carcinom i blære (0/1), stor B-celle lymfom (0/1), binyre-oncocytom (0/2), binyre-adenom (0/1), ganglioneurom (0/1), prostata-adenocarcinom (0/1), benign prostatahyperplasi (0/1), endometrielt stromasarkom (0/1), endometrielt adenocarcinom (0/1), endometrielt klart cellegarcinom (0/1), pheochromocytom (0/1), paragangliom (0/1) og cervixtumor (0/2).

**Thyroid Transcription Factor-1 (klon SPT24) anbefales til identifikation af TTF-1 i normale og neoplastiske væv og til anvendelse i diagnosen som en del af et panel af antistoffer.**

## 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 irregulæriteter 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 antigenekspression, 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 et al. 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. Berghmans T, Mascaux C, Martin B et al. Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2006; 52(2): 219-224.
6. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: a note of caution. Journal of Clinical Pathology. 2006; 59:663-664.
7. Comperat E, Zhang F, Perrotin C et al. Variable sensitivity and specificity of TTF-1 antibodies in lung metastatic adenocarcinoma of colorectal origin. Modern Pathology. 2005; 18(10):1371-1376.
8. Pan C-C, Chen PC-H, Tsay S-H et al. Cytoplasmic immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in hepatocellular carcinoma: a comparative immunohistochemical analysis of four commercial antibodies using a tissue array technique. American Journal of Clinical Pathology. 2004; 121(3):343-349.

## Rettelser Til Tidligere Udgave

Totalprotein koncentration, Anbefalinger Vedrørende Anvendelse, Forventede Resultater, Bibliografi - Generelt.

## Udgivelsesdato

12 Augustus 2010





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

