

Novocastra™ Væskeformigt Monoklonalt Museantistof Thyroid Transcription Factor-1 Produktkode: NCL-L-TTF-1

Tilsvaret 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 ekventiel 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 differentiell 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.

Specificitet

Human thyroideatransskriptionsfaktor 1 (TTF-1).

Reagenssammensætning

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

Ig-klasse

IgG1, kappa

Totalproteinkoncentration

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 på vores hjemmeside: 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 forholdsregler¹. 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.²

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 diffust udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan ligeledes observeres i vævssnit af væv, der er fikseret for kraftigt i formalin. Anvend intakte celler til fortolkning af farvningsresultaterne. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte mere uspecifikt.³ Der kan eventuelt ses falske positive resultater, der skyldes non-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. Dette kan ligeledes skyldes endogene enzymer,

såsom pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroxidase (cytochrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarve. For at differentiere mellem endogen enzymaktivitet eller uspecifik enzymbinding og specifik immunreaktivitet kan yderligere patientvæv eventuelt farves udelukkende med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, mærket polymer) og substratkromogen. Hvis der optræder specifik farvning i den negative vævskontrol, skal resultaterne af patientprøverne kasseres.

Negativ Reagenskontrol

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

Patientvæv

Eksaminer patientprøver farvet med NCL-L-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), skeletmuskel (0/4), tonsil (0/4), spytkirtel (0/4), myometrium (0/1), navlestreng (0/1), ureter (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), biskjoldbruskkirtel (0/1), perifere nerver (0/3), hypofyse (0/3), knoglemarv (0/3), uterus (0/3) og hud (0/4).

Tumurvæv

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 thyroideacarcinom, 4/4 medullært thyroideacarcinom, 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 lungecarcinom (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), levertumor (0/8), nyrecelle-carcinom (0/5), nyreovergangscellecarcinom (0/1), ovarietekom (0/1), granulosacelletumor i ovarie (0/1), juvenil granulosacelletumor i ovarie (0/1), serøst ovariecarcinom (0/3), mucinøst ovariecarcinom (0/2), kimcelletumor 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-celletumor (0/1), glucagonom i pancreas (0/1), testisseminom (0/3), blandet kimcelletumor 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), ladecellecarcinom 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), spindelcellerhabdomyosarkom (0/1), omental fibrøs tumor (0/1), transitionscellecarcinom i blære (0/2), småcellet carcinom i blære (0/1), stor B-cellet 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 cellecarcinom (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 irregulariteter indeholdt i vævet.⁴ For kraftig eller ukomplet kontrast-farvning kan gøre korrekt fortolkning af resultaterne vanskelig.

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

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

Bibliografi - Generelt

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M 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

Totalproteinkoncentration, Anbefalinger Vedrørende Anvendelse, Forventede Resultater, Bibliografi - Generelt.

Udgivelsesdato

12 Augustus 2010