

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Epithelial Antigen
Clone Ber-EP4**

Code M0804

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, Clone Ber-EP4, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels most epithelial cells and is a useful aid in the classification of adenocarcinoma (1). The antibody may also aid in the classification of esophageal carcinoma (2) and classification of basal and squamous cell carcinomas of the skin (3). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. 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. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.

Summary and explanation

Epithelial antigen is a cell surface glycoprotein of unknown function (4). This epithelium-specific antigen is broadly distributed in epithelial cells, and displays a highly conserved expression in carcinomas (4, 5). As exceptions to the general expression in normal epithelia, adult hepatocytes, in contrast to fetal hepatocytes, parietal cells in gastric glands, and apical cells in squamous epithelia are negative. Epithelial antigen may rarely be present in mesotheliomas (1, 4). It has been reported that epithelial antigen may play an important role as tumor-cell marker in lymph nodes from patients with esophageal carcinoma otherwise classified as node-negative (2).

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.

Reagent provided

Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L NaN₃.

Clone: Ber-EP4 (4). Isotype: IgG1, kappa.

Mouse IgG concentration: see label on vial.

The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.

Immunogen

MCF-7 cells (human breast carcinoma cell line) (4).

Specificity

Analysis of immunocomplexes between the antibody and lysate of ¹²⁵I surface-labeled MCF-7 cells in SDS-PAGE under reducing conditions shows that the antibody labels two polypeptides of 34 kDa and 39 kDa, respectively, corresponding to epithelial antigen. Under non-reducing conditions, the polypeptides appear as 39 kDa and 41 kDa, while deglycosylation reduces the size to 31 kDa, and 36 kDa.

In immunoprecipitation experiments, the Ber-EP4 antibody blocks the reaction of the HEA125 antibody with MCF-7 cell lysate and vice versa, showing that the two antibodies react with the same antigen. The two antibodies also produce identical staining results in cells and tissues (4).

Of 37 cell lines tested, the antibody homogeneously labels all (10/10) carcinoma cell lines, whereas all non-epithelial cell lines (26/27) are not labeled except for the erythromyeloid cell line K562 (4).

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the user must verify the conditions. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S-1700. Less optimal results are obtained with 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0. However, 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 was found inefficient. Pre-treatment of tissues with proteinase K was found less optimal. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labeling acetone-fixed, frozen sections and cell preparations (4). The user must validate the staining procedure.

Staining procedure

These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, Code M0804, may be used at a dilution range of 1:200-1:400 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human kidney and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Mouse IgG1, Code X0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S0809.

Quality control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens.

Visualization: Dako EnVision+HRP kits, e.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Product-specific limitations

In formalin-fixed, paraffin-embedded carcinomas arising from tissues with no or smaller amounts of epithelial antigen, such as hepatocellular and lung carcinomas, the antibody does not perform satisfactorily compared to labeling in frozen sections of the same tissues (4). Owing to the relative lability of the epitope in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections, negative results should be interpreted with caution (4).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display membranous and cytoplasmic staining. The membrane staining is preferentially basolateral (4).

Performance characteristics

Normal tissues: All normal epithelial tissues are labeled by the antibody. Epithelial cells of different origin display varying levels of staining, but most epithelia are strongly positive. Only parietal cells in gastric glands, apical cell layers in squamous epithelia, and adult hepatocytes are negative (4). The antibody does not label non-epithelial tissues, including spleen, peripheral blood, bone marrow, brain, connective tissue, smooth and striated muscle, heart, endothelia, and myoepithelia. Additionally pleura and peritoneum-lining cells are negative, but cells covering the ovary display a slight staining (4).

Abnormal tissues: The antibody labeled 142 of 144 epithelial tumor specimens, irrespective of their differentiation, derived from breast, oesophagus, stomach, colon, rectum, pancreas, kidney, liver, lung, thyroid and salivary glands, vagina, ovary, cervix uteri and nasopharynx, reflecting the staining pattern in their non-malignant counterparts. Hepatocellular carcinomas displayed heterogeneous staining and included the two non labeled cases. In this study (4), 2 of 2 squamous cell carcinomas of the lung and cervix uteri, respectively, were labeled in formalin-fixed, paraffin-embedded specimens, even though only the basal cell layers were labeled in normal tissues. In some carcinomas, such as gastric carcinomas, the antibody demonstrated a stronger labeling than in normal tissues, especially on the membrane. None of 88 non-epithelial tumors and 20 cases of leukemia were labeled by the antibody (4).

In a study of 83 adenocarcinomas and 115 malignant mesotheliomas, 72/83 adenocarcinomas were labeled by the antibody whereas only 1/115 malignant mesotheliomas was labeled (1). In another study, 20/20 lung adenocarcinomas and 4/46 mesotheliomas were labeled. Of the 4 labeled mesotheliomas, the 2 showed a strictly focal labeling (6). In lymph nodes classified as tumor free by conventional histopathological staging, the antibody labeled micrometastatic tumor cells in 89 of 126 patients with completely resected esophageal carcinomas (2). In a study of 75 skin tumors, the antibody labeled 39/39 basal cell carcinomas, 0/23 squamous cell carcinomas, and showed some areas of staining in 13/13 basosquamous carcinomas (3).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, Clone Ber-EP4 est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque la plupart des cellules épithéliales et facilite la classification des adénocarcinomes (1). L'anticorps peut également faciliter la classification des carcinomes de l'œsophage (2) et celle des carcinomes à cellules squameuses et basales de la peau (3). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.

Résumé et explication

L'antigène épithélial est une glycoprotéine de la surface cellulaire dont la fonction est inconnue (4). Cet antigène spécifique de l'épithélium est largement réparti dans les cellules épithéliales et présente une expression hautement conservée dans les carcinomes (4,5). Faisant exception à l'expression générale dans les épithéliums normaux, les hépatocytes adultes, contrairement aux hépatocytes fœtaux, les cellules pariétales des glandes gastriques et les cellules apicales dans les épithéliums squameux sont négatifs. L'antigène épithélial est rarement présent dans les mésothéliomes (1, 4). On a rapporté que l'antigène épithélial peut jouer un rôle important comme marqueur de cellule cancéreuse dans les ganglions lymphatiques de patients atteints de carcinome de l'œsophage classés autrement comme ganglion-négatifs (2).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du système de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris-HCl à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃).

Clone : Ber-EP4 (4). **Isotype :** IgG1, kappa.

Concentration en IgG de souris : Voir l'étiquette sur le flacon.

La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

Cellules MCF-7 (lignée cellulaire de carcinome du sein humain) (4).

Spécificité

L'analyse des immunocomplexes entre l'anticorps et le lysat de cellules MCF-7 marquées en surface au ¹²⁵I, par SDS-PAGE dans des conditions réductrices, montre que l'anticorps marque deux polypeptides de 34 kDa et 39 kDa, respectivement, correspondant à l'antigène épithélial. Dans des conditions non réductrices, les polypeptides apparaissent comme faisant 39 kDa et 41 kDa, tandis que la déglycosylation réduit la taille à 31 kDa et 36 kDa.

Dans les expérimentations d'immunoprécipitation, l'anticorps Ber-EP4 bloque la réaction de l'anticorps HEA125 avec le lysat de cellules MCF-7 et vice-versa, montrant que les deux anticorps réagissent avec le même antigène. Les deux anticorps présentent aussi une coloration identique dans les cellules et les tissus (4).

Sur 37 lignées cellulaires testées, l'anticorps marque de manière homogène toutes (10/10) les lignées cellulaires des carcinomes, alors que toutes les lignées cellulaires non épithéliales (26/27) ne sont pas marquées à l'exception de la lignée cellulaire érythromyéloïde K562 (4).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
4. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

Conservation

Conservé entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec la solution Dako Target Retrieval Solution, réf. S-1700. Des résultats moins optimaux sont obtenus dans un tampon citrate à 10 mmol/L, à pH 6,0. Toutefois, le tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0 s'est avéré inefficace. Le prétraitement des tissus par la protéinase K s'est révélé moins efficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes congelées et fixées à l'acétone et des préparations cellulaires (4). L'utilisateur doit valider la procédure de coloration.

Procédure de coloration

Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.

Dilution: L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, réf. M0804, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:200 à 1:400 lorsqu'il est appliqué sur des coupes de rein humain fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans la solution Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG1, réf. X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

Contrôle de qualité: Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

Visualisation: Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+/HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

Limitations spécifiques du produit

Dans des carcinomes inclus en paraffine et fixés au formol provenant de tissus sans antigène épithélial ou en très faible quantité, comme les carcinomes hépatocellulaires et du poumon, l'anticorps ne présente pas de résultats satisfaisants par rapport au marquage des coupes congelées provenant des mêmes tissus (4). En raison de la labilité relative de l'épitope dans les coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine, les résultats négatifs doivent être interprétés avec prudence (4).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique et membranaire. La coloration membranaire est plutôt basolatérale (4).

Performances

Tissus sains: Tous les tissus épithéliaux sains ont été marqués par l'anticorps. Les cellules épithéliales d'origines différentes affichent des niveaux de coloration variés, mais la plupart des épithéliums sont fortement positifs. Seuls les cellules pariétales des glandes gastriques, les cellules apicales des épithéliums squameux et les hépatocytes adultes sont négatifs (4). L'anticorps ne marque pas les tissus non épithéliaux, notamment la rate, le sang périphérique, la moelle osseuse, le cerveau, le tissu conjonctif, les muscles lisses et striés, le cœur, les endothéliums et les myoépithéliums. En outre, les cellules tapissant la plèvre et le péritoine sont négatives mais les cellules couvrant l'ovaire présentent une légère coloration (4).

Tissus anormaux: L'anticorps a marqué 142 échantillons de tumeurs épithéliales sur 144, indépendamment de leur différenciation, qu'elles soient dérivées du sein, de l'œsophage, de l'estomac, du côlon, du rectum, du pancréas, du rein, du foie, du poumon, des glandes thyroïde ou salivaires, du vagin, de l'ovaire, du col utérin et du nasopharynx, reprenant le motif de coloration de leurs contreparties non malignes. Les carcinomes hépatocellulaires présentaient une coloration hétérogène et comprenaient les deux cas non marqués. Dans cette étude (4), 2 carcinomes à cellules squameuses sur 2, du poumon et du col utérin respectivement, étaient marqués sur des échantillons fixés au formol, inclus dans de la paraffine, même si seules les couches de cellules basales étaient marquées dans les tissus sains. Dans certains carcinomes, comme celui de l'estomac, l'anticorps a montré un marquage plus fort que dans les tissus normaux, en particulier sur la membrane. Aucune des 88 tumeurs non épithéliales ni aucun des 20 cas de leucémie n'ont été marqués par l'anticorps (4).

Dans une étude de 83 adénocarcinomes et 115 mésothéliomes malins, 72 adénocarcinomes sur 83 étaient marqués par l'anticorps tandis que seul 1 mésothéliome malin sur 115 l'était (1). Dans une autre étude, 20 adénocarcinomes pulmonaires sur 20 et 4 mésothéliomes sur 46 ont été marqués. Sur les 4 mésothéliomes marqués, 2 ont présenté un marquage strictement focal (6). Dans les ganglions lymphatiques classés comme non tumoraux selon les catégories histopathologiques conventionnelles, l'anticorps a marqué des cellules tumorales micro-métastatiques chez 89 patients sur 126, dont les carcinomes de l'œsophage avaient été complètement résolus (2). Dans une étude de 75 tumeurs cutanées, l'anticorps a marqué 39 carcinomes basocellulaires sur 39, 0 carcinome spinocellulaire sur 23 et 13 carcinomes basospino cellulaires sur 13 présentaient une coloration sur certaines zones (3).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, Clone Ber-EP4 ist für die Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert die meisten epithelialen Zellen und unterstützt die Klassifizierung von Adenokarzinomen (1). Der Antikörper kann auch die Klassifizierung von Ösophaguskarzinomen (2) sowie von Basalzell- und Plattenzellkarzinomen der Haut unterstützen (3). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

Zusammenfassung und Erklärung

Das Epithelantigen ist ein Glykoprotein an der Zelloberfläche, dessen Funktion bisher unbekannt ist (4). Dieses epithelspezifische Antigen ist in Epithelzellen weit verbreitet und zeigt eine stark konservierte Expression in Karzinomen (4, 5). Ausnahmen bezüglich der verbreiteten Expression in gesunden Epithelien stellen reife Hepatozyten (im Unterschied zu fötalen Hepatozyten), Parietalzellen in Magendrüsen und apikale Zellschichten in Plattenepithelen dar, die negativ sind. Epitheliales Antigen kann selten in Mesotheliomen vorkommen (1, 4). Es wurde gezeigt, dass epitheliales Antigen als Tumormarker in Lymphknoten von Patienten mit Ösophaguskarzinomen, die andernfalls als Lymphknoten-negativ diagnostiziert wurden, eine wichtige Rolle spielen kann (2).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebevorbereitung, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L NaN₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: Ber-EP4 (4). **Isotyp:** IgG1, Kappa.

Konzentration von Maus-IgG: Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färberegebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

MCF-7-Zellen (menschliche Brustkarzinom-Zelllinie) (4).

Spezifität

Die Untersuchung von Immunkomplexen zwischen dem Antikörper und Lysat von ¹²⁵I-oberflächenmarkierten MCF-7-Zellen mit SDS-PAGE unter reduzierenden Bedingungen zeigt, dass der Antikörper zwei Polypeptide mit 34 kDa bzw. 39 kDa markiert, die dem epithelialen Antigen entsprechen. Unter nicht-reduzierenden Bedingungen erscheinen die Polypeptide als 39 kDa- bzw. 41 kDa-Proteine, während Deglykosylierung ihre Größe auf 31 kDa bzw. 36 kDa reduziert.

In Immunpräzipitations-Experimenten blockiert der Ber-EP4-Antikörper die Reaktion des HEA125-Antikörpers mit dem MCF-7-Zellysat und umgekehrt, was zeigt, dass beide Antikörper mit demselben Antigen reagieren. Beide Antikörper erzeugen auch identische Färbemuster in Zellen und Geweben (4).

Von 37 getesteten Zelllinien markierte der Antikörper einheitlich alle (10 von 10) Karzinomzelllinien, dagegen wurden alle nicht-epithelialen (26 von 27) Zelllinien nicht markiert, mit Ausnahme der erythromyeloiden Zelllinie K562 (4).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts.

Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Ergebnisse werden unter Verwendung von Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S-1700, erzielt. Weniger optimale Resultate werden mit 10 mmol/L Zitratpuffer, pH 6,0, erzielt. 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0 erwies sich als ineffizient. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K erwies sich als weniger optimal. Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und Zellpräparaten (4). Das Färbeverfahren muss vom Anwender validiert werden.

Färbeverfahren

Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, Code-Nr. M0804, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Nierengewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:200 und 1:400 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, empfohlen, das auf dieselbe Konzentration an Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Detektionssystem: Dako EnVision+HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Produktspezifische Beschränkungen

Bei formalinfixierten, paraffineingebetteten Karzinomen aus Gewebe mit wenig oder keinem epithelialem Antigen, z. B. hepatozellulären Karzinome und Lungenkarzinome, erbringt der Antikörper im Vergleich zu Gefrierschnitten derselben Gewebe keine zufriedenstellenden Leistungen (4). Angesichts der relativen Labilität des Epitops in formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten sind negative Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren (4).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine zytoplasmatische und membranöse Färbung auf. Die Membranfärbung ist vorzugsweise basolateral (4).

Leistungseigenschaften

Normalgewebe: Alle normalen epithelialen Gewebe werden durch den Antikörper markiert. Epitheliale Zellen unterschiedlicher Herkunft weisen unterschiedliche Intensitäten der Färbung auf, die meisten Epithelien sind aber stark positiv. Nur Parietalzellen in Magendrüsen, apikale Zellschichten in Plattenepithelien und reife Hepatozyten sind negativ (4). Der Antikörper markiert keine nicht-epithelialen Gewebe, darunter Milz, peripheres Blut, Knochenmark, Gehirn, Bindegewebe, glatte und gestreifte Muskeln, Herz, Endothel und Myoepithel. Weiterhin sind Pleurazellen und peritoneumauskleidende Zellen negativ, dagegen weisen die die Eierstöcke bedeckenden Zellen eine leichte Färbung auf (4).









Anormale Gewebe: Der Antikörper markierte, unabhängig von deren Differenzierungsgrad, 142 von 144 epithelialen Tumorproben von Brust, Speiseröhre, Magen, Dickdarm, Rektum, Pankreas, Niere, Leber, Lunge, Schilddrüse, Speicheldrüsen, Vagina, Eierstöcken, Gebärmutterhals und Nasopharynx, wobei die Färbemuster in den jeweiligen normalen Geweben widerspiegelt wurden. Hepatozelluläre Karzinome zeigten heterogene Färbung und schlossen die zwei nicht markierten Fälle ein. In dieser Studie (4) wurden 2 von 2 Plattenzellkarzinomen von Lunge bzw. Gebärmutterhals als formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Proben markiert, obwohl in normalen Geweben nur die basalen Zellschichten markiert waren. Bei einigen Karzinomen wie z. B. Magenkarzinomen zeigte der Antikörper eine stärkere Markierung als im normalen Gewebe, insbesondere an der Membran. Keiner der 88 nicht-epithelialen Tumore und keiner der 20 Leukämie-Fälle (4) wurde durch den Antikörper markiert.

In einer Studie mit 83 Adenokarzinomen und 115 malignen Mesotheliomen wurden 72 von 83 Adenokarzinomen durch den Antikörper markiert, dagegen nur 1 von 115 malignen Mesotheliomen (1). In einer weiteren Studie wurden 20 von 20 Adenokarzinomen der Lunge und 4 von 46 Mesotheliomen markiert. Von den 4 markierten Mesotheliomen zeigten 2 eine stark örtlich begrenzte Markierung (6). In Lymphknoten, die nach konventionellem histopathologischem Staging als tumorfrei eingestuft wurden, markierte der Antikörper bei 89 von 126 Patienten mit vollständig entferntem Ösophaguskarzinom mikrometastatische Tumorzellen (2). In einer Studie mit 75 Hauttumoren markierte der Antikörper 39 von 39 Basalzellkarzinomen und 0 von 23 Plattenzellkarzinomen und zeigte einige gefärbte Regionen in 13 von 13 basosquamösen Karzinomen (3).

References/ Références/ Literatur

1. Sheibani K, Shin SS, Kezirian J, Weiss LM. Ber-EP4 antibody as a discriminant in the differential diagnosis of malignant mesothelioma versus adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 1991;15:779-84.
1. 2. Hosch S, Kraus J, Scheunemann P, Izbicki JR, Schneider C, Schumacher U, et al. Malignant potential and cytogenetic characteristics of occult disseminated tumor cells in esophageal cancer. Cancer Res 2000;60:6836-40.
2. Beer TW, Shepherd P, Theaker JM. Ber EP4 and epithelial membrane antigen aid distinction of basal cell, squamous cell and basosquamous carcinomas of the skin. Histopathology 2000;37:218-23.
4. Latza U, Niedobitek G, Schwarting R, Nekarda H, Stein H. Ber-EP4: new monoclonal antibody which distinguishes epithelia from mesothelia. J Clin Pathol 1990;43:213-9.
5. Momburg F, Moldenhauer G, Hämmerling GJ, Möller P. Immunohistochemical study of the expression of a M 34,000 human epithelium-specific surface glycoprotein in normal and malignant tissues. Cancer Res 1987;47:2883-91.
6. Carella R, Deleonardi G, D'Errico A, Salerno A, Egarter-Vigl E, Seebacher C, et al. Immunohistochemical panels for differentiating epithelial malignant mesothelioma from lung adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 2001;25:43-50.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		Manufacturer Fabricant Hersteller
 i	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com