**VII CONFERENCIA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**Estandarización inmunohistoquímica de un anticuerpo monoclonal anti EGFR para su uso en la práctica clínica**

***Immunohistochemistry standardization of anti EGFR monoclonal antibody to be used in clinical practice***

**Mercedes Cedeño1, Meilyn Cruz2, Rancés Blanco3**

1-Mercedes Cedeño. Centro de Inmunología Molecular, Cuba. E-mail: mechu@cim.sld.cu

2- Meilyn Cruz. Centro de Inmunología Molecular, Cuba. E-mail: meilyncruz@gmail.com

3- Rancés Blanco. Centro de Inmunología Molecular, Cuba. E-mail: rances@cim.sld.cu

**Resumen:**

**Problemática:** La inmunohistoquímica (IHC) es uno de los métodos más utilizados para la selección de pacientes candidatos para las terapias dirigidas contra blancos. Sin embargo, las diferencias en estos procedimientos aumentan la variabilidad intra e interlaboratorios y afectan la reproducibilidad del ensayo.

**Objetivo(s):** Determinar las condiciones óptimas de tinción del anticuerpo monoclonal (mAb) ior EGF / r3 utilizando tejidos fijados en formol e incluidos en parafina.

**Metodología:** La reactividad de los mAbs ior EGF/r3 y el clon 2-18C9 (PharmDxTM, Dako) se comparó en cortes de tejidos normales y en microarreglos tisulares procedentes de tumores de mama, colon y pulmón. La intensidad de la tinción se clasificó como: negativa (0), débil (1+), moderada (2+) e intensa (3+).

**Resultados y discusión:** El bloqueo de las uniones inespecífica, la reanimación antigénica de los tejidos con pronasa y el empleo del sistema de detección polímero conjugado con peroxidasa, entre otros factores, favorecieron la inmunorreactividad con el ior EGF/ r3. Con ambos mAbs se detectó reactividad en la membrana y citoplasma de las células epiteliales de los tejidos normales y neoplásicos. Con ambos mAbs se detectó reactividad en la membrana y citoplasma de las células epiteliales de los tejidos normales y neoplásicos. En la mayoría de los tejidos positivos se observó un reconocimiento ligeramente más intenso con el clon 2-189C, que no afectó la correlación positiva de las intensidades del marcaje entre los dos anticuerpos (p < 0,0001; Prueba de Mantel).

**Conclusiones**: Se desarrolló y estandarizó un procedimiento optimizado para la detección del EGFR con el empleo del mAb ior egf/r3 en muestras de tejido fijadas en formol e incluidas en parafina. El patrón de reconocimiento obtenido con los mAbs ior egf/r3 y el clon 2-18C9 mediante métodos inmunohistoquímicos fue comparable.

***Abstract:***

**Problematic:** Immunohistochemistry (IHC) is one of the most widely method used for the selection of patients eligible for target therapies. However, differences in the immunohistochemical procedures increase both intra and inter-laboratory variability and affect the assay reproducibility.

**Aim:** To determine the optimal staining of the ior EGF/r3 monoclonal antibody (mAb) using formalin-fixed and paraffin-embedded tissues.

**Methods:** The immunohistochemical reactivity of both ior EGF/r3 and 2-18C9 (PharmDxTM, Dako) mAbs was evaluated in normal sections as well as in tissue microarray core samples from breast, colon and lung tumors. The intensity of positive staining was scored as negative (0), weak (1+), moderate (2+) and intense (3+).

**Results and Discussion:** Among other technical factors, the blockade of nonspecific antibody reaction, the pronase digestion of tissues and the use of a peroxidase-conjugated polymer backbone as detection system improved the immunostaining with the ior EGF/r3 mAb. Reactivity on plasmatic membrane and cytoplasm of epithelial cells from normal and neoplastic tissues were detected with both antibodies. A slightly more intense EGFR staining with the clone 2-18C9 was observed in most of positive tissues. Consequently, it did not affect the positive correlation between the staining intensities of the two antibodies (p < 0.0001; Mantel Test).

**Conclusions:** An optimized immunohistochemistry assay for determining the EGFR expression with the ior EGF/r3 mAb was developed and standardized on formalin fixed and paraffin embedded tissue samples. The recognition patterns obtained by immunohistochemistry using both the ior EGF/r3 and the 2-18C9 monoclonal antibodies were comparable.

**Palabras Clave:** Validación de Anticuerpos; Biomarcador, Inmunocoloración.

***Keywords:*** Antibody Validation; Biomarker; Immunostain.