

## CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

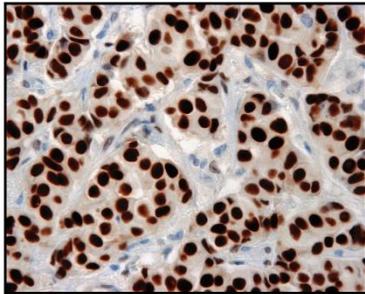
**REF** 790-4324  50

05278406001

**REF** 790-4325  250

05278414001

**IVD**



**Abb. 1. Färbung eines lobulären Mammakarzinoms mit dem CONFIRM anti ER (SP1) Antikörper**

### VERWENDUNGSZWECK

CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper) ist für den Laboreinsatz zum qualitativen Nachweis von Estrogenrezeptor (ER)-Antigen in Schnitten von formalinfixiertem, paraffineingebettetem Brustgewebe auf einem VENTANA Färbearomat mit VENTANA Nachweiskits und Hilfsreagenzien bestimmt. Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper ist gegen ein Epitop im Alpha-Protein des humanen ER im

Zellkern ER-positiver normaler und neoplastischer Zellen gerichtet. Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper ist zur Unterstützung bei der Versorgung, Prognose und Vorhersage des Erfolgs einer Hormontherapie bei Mammakarzinom bestimmt.

Dieses Produkt muss von einem qualifizierten Pathologen in Verbindung mit histologischen Untersuchungen, klinisch relevanten Informationen und geeigneten Kontrollen interpretiert werden.

Verschreibungspflichtig.

Dieser Antikörper ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD) bestimmt.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Bei dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper handelt es sich um einen monoklonalen Kaninchen-Antikörper, der den humanen Estrogenrezeptor (ER) alpha erkennt. ER ist ein nukleärer Hormonrezeptor, der von zwei verschiedenen Genen, ESR1 und ESR2, codiert wird, welche die Alpha- bzw. die Beta-Isoform transkribieren.<sup>1,2</sup> ER alpha ist die primäre Isoform, die in luminalen Epithelzellen im Brustgewebe exprimiert wird.<sup>1,2</sup> Der ER steuert mit seiner Aktivität die normale Brustdrüsenentwicklung und ist für die Differenzierung und Proliferation im Brustepithel von Erwachsenen erforderlich.<sup>3,4</sup> In neoplastischen Zellen löst eine durch Überexpression des Rezeptors induzierte hochregulierte ER-Aktivität eine Abfolge zellulärer Ereignisse aus, die zu Hyperproliferation und Tumorbildung führen.<sup>5</sup>

Brustkrebs ist die Hauptursache für krebsbedingte Todesfälle bei Frauen.<sup>6</sup> Die Diagnose und Behandlung der Erkrankung beruhen auf der Früherkennung in Verbindung mit einer angemessenen Behandlungsstrategie auf der Grundlage prognostischer und prädiktiver Faktoren.<sup>7,8</sup> Der ER wurde bereits 1973 als prognostischer Indikator für Brustkrebs identifiziert und sein Wert für die Vorhersage des Ansprechens auf eine endokrine Therapie wurde 1986 in einer großen Kohorte untersucht.<sup>9,10</sup> Seitdem ist der ER einer der wichtigsten Tumormarker für die Versorgung von Brustkrebspatienten. Eine hohe ER-Konzentration im Brusttumor korreliert mit einem besseren Ansprechen auf die endokrine Therapie.<sup>7,8</sup> Die Kenntnis des ER-Status spielt daher eine wichtige Rolle bei der Auswahl der Behandlung für den Patienten, ist jedoch nicht die einzige Grundlage für die Auswahl der Behandlung.<sup>7,8</sup> In einer Reihe von Studien wurde gezeigt, dass das Vorhandensein von ER mit einer günstigen Langzeitprognose im Zusammenhang steht.<sup>10,11</sup>

Klinischen Leitlinien und Empfehlungen bewährter Verfahren zufolge sollte der ER-Status bei jedem Fall von primärem invasivem Brustkrebs bestimmt werden, um Patienten zu identifizieren, die am wahrscheinlichsten auf endokrine Therapieformen ansprechen.<sup>7,8</sup>

Selektive Estrogenrezeptormodulatoren blockieren das durch Estrogen vermittelte Krebswachstum, indem sie die ER-Hyperaktivität verringern, und werden als endokrine (Hormon-)Therapie bei Patienten mit Überexpression des Rezeptors eingesetzt.<sup>8,12</sup> Derzeit ist Tamoxifen die bevorzugte Behandlung bei ER-positiven Karzinomen.<sup>7,8</sup>

In Leitlinien und Empfehlungen bewährter Verfahren wird auf die Immunhistochemie (IHC) als bevorzugte Methode zum Nachweis von ER bei Brustkrebs verwiesen.<sup>13</sup> Studien mit großen Kohorten von Patienten mit invasivem Mammakarzinom kommen zu dem Schluss, dass anti-ER clone SP1 beim ER-Nachweis eine höhere Sensitivität zeigt ist als die monoklonalen Mausklone 1D5 und 6F11.<sup>14,15</sup> Der auf IHC basierende Nachweis von ER mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper kann zur Unterstützung bei der Versorgung, Prognose und Vorhersage des Erfolgs einer Hormontherapie bei Mammakarzinom verwendet werden.

### VERFAHRENSPRINZIP

Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper bindet an den ER in formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE) Gewebeschnitten. Der spezifische Antikörper kann entweder durch eine Formulierung mit Biotin-konjugiertem sekundärem Antikörper, der Kaninchen-Immunglobuline erkennt, gefolgt von der Zugabe eines Streptavidin-Meerrettich-Peroxidase (HRP)-Konjugats (VIEW DAB Detection Kit), oder eines Konjugats aus einem sekundären Antikörper und HRP (ultraView Universal DAB Detection Kit) lokalisiert werden. Die Sichtbarmachung des spezifischen Antikörper-Enzym-Komplexes erfolgt mithilfe eines Enzymreaktionsproduktes, das einen Niederschlag bildet. Klinische Fälle sollten im Kontext der Durchführung angemessener Kontrollen ausgewertet werden. Ventana empfiehlt die Verwendung einer positiven Gewebekontrolle, die auf die gleiche Weise wie die Patientenprobe fixiert und verarbeitet wird (z. B. Gewebe aus einem schwach positiven Mammakarzinom oder aus der Gebärmutter). Neben der Färbung mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper sollte ein zweiter Objektträger mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbt werden. Damit der Test als gültig betrachtet werden kann, sollte das positive Kontrollgewebe eine Zellkernfärbung der Tumorzellen bzw. des Gebärmutterdrüsenengewebes und -stromas aufweisen. Diese Bestandteile sollten bei der Färbung mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig negativ sein. Außerdem wird empfohlen, dass bei jeder Charge von Proben, die auf einem BenchMark IHC/ISH Gerät verarbeitet und analysiert wird, ein Objektträger mit einer negativen Gewebekontrolle mitgeführt wird (z. B. Gewebe eines ER-negativen Mammakarzinoms). Diese negative Gewebekontrolle sollte mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper gefärbt werden, um sicherzustellen, dass die Antigenanreicherung und andere Vorbehandlungsverfahren keine falsch-positive Färbung verursacht haben.

### IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper (Art.-Nr. 790-4324) enthält ausreichendes Reagenzmaterial für 50 Tests.

Ein 5-mL-Spender mit CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper enthält etwa 5 µg eines monoklonalen Kaninchen-Antikörpers gegen ein Antigen des humanen ER.

CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper (Art.-Nr. 790-4325) enthält ausreichendes Reagenzmaterial für 250 Tests.

Ein 25-mL-Spender mit CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper enthält etwa 25 µg eines monoklonalen Kaninchen-Antikörpers gegen ein Antigen des humanen ER.

Der Antikörper ist in Tris-HCl mit Trägerprotein und 0.10 % ProClin 300, einem Konservierungsmittel, verdünnt. Es sind Spuren (etwa 0.2 %) von fötalem Kälberserum US-amerikanischer Herkunft aus der Stammlösung vorhanden.

Die spezifische Antikörperkonzentration beträgt etwa 1 µg/mL. Bei diesem Produkt wurde keine bekannte unspezifische Antikörperreaktivität festgestellt.

Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper ist ein monoklonaler Kaninchen-Antikörper, der als Zellkulturüberstand hergestellt wird.

Eine ausführliche Beschreibung der folgenden Punkte ist dem Methodenblatt des entsprechenden VENTANA Nachweiskits zu entnehmen: Verfahrensprinzip, Materialien und Methoden, Probensammlung und -vorbereitung zur Analyse, Qualitätskontrollverfahren, Fehlerbehebung, Interpretation der Ergebnisse und Einschränkungen.

### NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE, ABER ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Färbereagenzien wie die VENTANA Nachweiskits und Hilfskomponenten, einschließlich der Objektträger mit negativen und positiven Gewebekontrollen, werden nicht mitgeliefert. Möglicherweise sind nicht alle in dem Methodenblatt aufgeführten Produkte in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an den zuständigen Kundendienst.

Die folgenden möglicherweise für die Färbung benötigten Reagenzien und Materialien sind nicht im Lieferumfang enthalten:

1. Empfohlenes Kontrollgewebe
2. Objektträger, positiv geladen
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (Art.-Nr. 760-1029 / 05266238001)
4. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (Art.-Nr. 760-500 / 05269806001)
5. *VIEW* DAB Detection Kit (Art.-Nr. 760-091 / 05266157001)
6. A/B Block (Endogenous Biotin Blocking Kit) (Art.-Nr. 760-050 / 05266092001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (Art.-Nr. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Art.-Nr. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (Art.-Nr. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (Art.-Nr. 760-2037 / 05266769001)
15. BenchMark IHC/ISH Gerät
16. Allgemeine Laborgeräte

### LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Bei Annahme, und wenn nicht verwendet, bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren.

Um die ordnungsgemäße Abgabe der Reagenzien und die Stabilität des Antikörpers zu gewährleisten, muss die Spender-Verschlusskappe nach jedem Gebrauch wieder aufgesetzt und der Spender sofort in aufrechter Position in den Kühlschrank gestellt werden.

Jeder Antikörperspender ist mit einem Verfallsdatum versehen. Bei korrekter Lagerung ist das Reagenz bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Das Reagenz darf nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

### PROBENVORBEREITUNG

Für diesen primären Antikörper eignet sich routinemäßig präpariertes FFPE-Gewebe, wenn es mit einem VENTANA Nachweiskit und einem BenchMark IHC/ISH Gerät verwendet wird. Für die Probenaufbereitung werden die folgenden Schritte empfohlen:<sup>16</sup>

1. Die Probe in 10 % neutral gepuffertes Formalin geben. Die verwendete Menge beträgt das 15- bis 20-Fache des Gewebevolmens. Kein Fixativ dringt innerhalb von 24 Stunden mehr als 2 bis 3 mm in festes Gewebe oder mehr als 5 mm in poröses Gewebe ein. Ein Gewebeschnitt von 3 mm oder kleiner sollte mindestens 4 Stunden und höchstens 8 Stunden fixiert werden. Die Fixierung kann bei Raumtemperatur (15-25 °C) stattfinden.
2. Nach der Fixierung wird die Probe über Nacht in ein Gerät zur Gewebeaufbereitung gegeben. Kurz zusammengefasst, besteht diese Aufbereitung aus der Dehydratisierung der Probe mit Alkoholen, gefolgt von Klärreagenzien zur Entfernung von Alkoholen und schließlich der Infiltration mit Paraffin.
3. Die Proben werden in Gewebekassetten mit Paraffin eingebettet und etwa 4 µm dicke Schnitte werden geschnitten, zentriert und auf Objektträger aufgebracht. Es sollten Superfrost Plus oder gleichwertige Objektträger verwendet werden. Das Gewebe sollte luftgetrocknet werden, indem die Objektträger über Nacht bei Umgebungstemperatur stehen gelassen oder für 30 Minuten in einen Ofen mit 60 °C gelegt werden.

Die Objektträger sind möglichst sofort zu färben, da die Antigenität der Gewebeschnitte mit der Zeit nachlassen kann.

Es wird empfohlen, unbekannte Proben gleichzeitig mit positiven und negativen Gewebekontrollen zu testen.

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD).
2. Nur zur professionellen Verwendung.
3. **WICHTIGER HINWEIS:** In den USA ist der Verkauf dieses Produkts laut Bundesgesetz nur durch einen Arzt oder auf Anordnung eines Arztes zulässig. (Rx Only (verschreibungspflichtig))
4. Nur für die angegebene Testanzahl verwenden.
5. ProClin 300 Lösung wird als Konservierungsmittel in diesem Reagenz verwendet. Es ist als Reizstoff eingestuft und kann eine Sensibilisierung durch Hautkontakt hervorrufen. Bei der Arbeit mit diesem Mittel sind angemessene

- Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden. Schutzhandschuhe und entsprechende Schutzkleidung tragen.
6. Positiv geladene Objektträger können gegenüber umgebungsbedingten Belastungen anfällig sein, die zu einer nicht adäquaten Färbung führen. Mehr Informationen über die Verwendung dieser Arten von Objektträgern erhalten Sie von Ihrem Roche Servicetechniker.
7. Dieses Produkt enthält 1 % oder weniger Rinderserum, das zur Herstellung des Antikörpers verwendet wird.
8. Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen als biogefährliche Materialien behandelt und mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Im Falle einer Exposition sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörden zu beachten.<sup>17,18</sup>
9. Kontakt der Reagenzien mit Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt von Reagenzien mit empfindlichen Körperteilen mit reichlich Wasser spülen.
10. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da dies zu fehlerhaften Versuchsergebnissen führen kann.
11. Weiterführende Informationen zur Verwendung dieses Produkts sind dem Benutzerhandbuch des BenchMark IHC/ISH Geräts und den Gebrauchsanweisungen der benötigten Komponenten auf [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com) zu entnehmen.
12. Anweisungen zur vorschriftsmäßigen Entsorgung sind bei den zuständigen kommunalen und/oder staatlichen Behörden erhältlich.
13. Die Kennzeichnung der Produktsicherheit erfolgt in erster Linie nach der EU-GHS-Verordnung. Sicherheitsdatenblätter sind für professionelle Benutzer auf Anfrage erhältlich.
14. Bei Verdacht auf ein schwerwiegendes Ereignis im Zusammenhang mit diesem Produkt wenden Sie sich an den Roche-Vertreter vor Ort und melden das Ereignis bei der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaats bzw. des Landes, in dem sich der Benutzer befindet.

Dieses Produkt enthält Bestandteile, die nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 wie folgt eingestuft sind:

**Tabelle 1.** Gefahrenhinweis.

| Gefahr  | Code        | Hinweis   |
|---|-------------|---|
|  | H317        | Kann allergische Hautreaktionen verursachen.  |
|   | H412        | Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.                            |
|   | P261        | Nebel oder Dämpfe nicht einatmen.   |
|   | P273        | Freisetzung in die Umwelt vermeiden.  |
|   | P280        | Schutzhandschuhe tragen.  |
|   | P333 + P313 | Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. |
|   | P362 + P364 | Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.                     |
|   | P501        | Inhalt/Behälter einer zugelassenen Müllentsorgungsanlage zuführen.                    |

Dieses Produkt enthält CAS-Nr. 55965-84-9, eine Reaktionsmasse von: 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

### FÄRBEVERFAHREN

VENTANA primäre Antikörper wurden zur Verwendung auf BenchMark IHC/ISH Geräten in Kombination mit VENTANA Nachweiskits und Zubehör entwickelt. Die empfohlenen Färbeprotokolle sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 zu finden.

Dieser Antikörper wurde für spezifische Inkubationszeiten optimiert, der Benutzer sollte jedoch die mit diesem Reagenz erzielten Ergebnisse überprüfen.

Die Parameter für die automatisierten Verfahren können gemäß dem Verfahren im Benutzerhandbuch des Geräts angezeigt, gedruckt und bearbeitet werden. Weitere Informationen zu IHC-Färbeverfahren können dem Methodenblatt des entsprechenden VENTANA Nachweiskits entnommen werden.

Weitere Hinweise zur ordnungsgemäßen Verwendung dieses Produkts finden Sie im Methodenblatt des integrierten Spenders (Art.-Nr. 790-4324 oder 790-4325).

Die Verifizierung und Validierung des für jedes Nachweiskit empfohlenen Färbeverfahrens wird mithilfe von Tests zur Entwurfskontrolle und Ergebnissen klinischer Studien durchgeführt.

Jegliche Änderung des empfohlenen Färbeverfahrens macht die in diesem Methodenblatt angegebenen Leistungsmerkmale ungültig. Bei Änderungen des empfohlenen Färbeverfahrens liegt die Verantwortung beim Benutzer.

**Tabelle 2.** Empfohlene Färbeprotokolle für den CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper mit *ultraView* Universal DAB Detection Kit auf BenchMark IHC/ISH Geräten.

| Verfahrenstyp                             | Methode                   |                           |
|---|---------------------------|---------------------------|
|   | XT                        | ULTRA oder ULTRA PLUS     |
| Entparaffinisierung                       | Ausgewählt                | Ausgewählt                |
| Zellkonditionierung (Antigendemaskierung) | CC1, Standard             | ULTRA CC1, Standard       |
| Primärer Antikörper                       | 16 Minuten, 37 °C         | 16 Minuten, 36 °C         |
| Gegenfärbung                              | Hematoxylin II, 4 Minuten | Hematoxylin II, 4 Minuten |
| Abschließende Gegenfärbung                | Bluing, 4 Minuten         | Bluing, 4 Minuten         |

**Tabelle 3.** Empfohlene Färbeprotokolle für den CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper mit *VIEW* DAB Detection Kit auf BenchMark IHC/ISH Geräten

| Verfahrenstyp                             | Methode                   |                           |
|---|---------------------------|---------------------------|
|   | XT                        | ULTRA                     |
| Entparaffinisierung                       | Ausgewählt                | Ausgewählt                |
| Zellkonditionierung (Antigendemaskierung) | CC1, Standard             | ULTRA CC1, Standard       |
| Primärer Antikörper                       | 16 Minuten, 37 °C         | 16 Minuten, 36 °C         |
| A/B-Gewebeblock (Biotinblockierung)       | Erforderlich              | Erforderlich              |
| Gegenfärbung                              | Hematoxylin II, 4 Minuten | Hematoxylin II, 4 Minuten |
| Abschließende Gegenfärbung                | Bluing, 4 Minuten         | Bluing, 4 Minuten         |

Durch die Unterschiede bei der Gewebefixierung und -aufbereitung sowie der allgemeinen Merkmale der verwendeten Laborgeräte und der herrschenden Laborbedingungen kann es erforderlich sein, die Inkubationsdauer für den primären Antikörper, die Zellkonditionierung oder die Proteasevorbehandlung je nach verwendeten Proben und Nachweismethoden und nach Ermessen des Ablesers zu verlängern oder zu verkürzen. Weiterführende Informationen über Fixierungsvariablen siehe „Immunohistochemistry Principles and Advances“.<sup>19</sup>

### POSITIVE GEWEBEKONTROLLE

Jeder Färbelauf muss eine positive Gewebekontrolle beinhalten. Das College of American Pathologists empfiehlt, dass eine positive Gewebekontrolle auf dem Objektträger mit der Patientenprobe durchgeführt wird.<sup>13</sup> Ein Beispiel für Gewebe, das als positive Kontrolle mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper verwendet werden kann, ist Gewebe eines schwach positiven Mammakarzinoms. Die positiv färbenden Zellen oder Gewebestandteile (Zellkernfärbung von Tumorzellen) werden verwendet, um zu bestätigen, dass der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper korrekt angewendet wurde und das Gerät ordnungsgemäß funktionierte. Dieses Gewebe kann sowohl positiv als auch negativ färbende Zellen oder Gewebestandteile enthalten und damit als Positiv- wie auch als Negativkontrolle verwendet werden. Das Kontrollgewebe muss eine frische Probe einer Autopsie, Biopsie oder eines chirurgischen Eingriffs sein und so schnell wie

möglich auf identische Weise wie die Probenschnitte präpariert oder fixiert werden. Mit diesem Gewebe können alle Verfahrensschritte von der Gewebepreparation bis zur Färbung kontrolliert werden. Die Verwendung eines Gewebeschnitts, der anders als die Testprobe fixiert oder aufgearbeitet wurde, ermöglicht die Kontrolle aller Reagenzien und Methodenschritte mit Ausnahme der Fixierung und Gewebeaufbereitung.

Ein Gewebe mit schwacher positiver Färbung ist zur optimalen Qualitätskontrolle und zum Nachweis eines geringfügigen Reagenzabbaus besser geeignet als eines mit starker positiver Färbung. Idealerweise sollte ein Mammakarzinomgewebe gewählt werden, von dem bekannt ist, dass es eine schwache, aber positive Färbung aufweist, um sicherzustellen, dass das System Sensitivität gegenüber einem geringfügigen Reagenzabbau oder Problemen mit der IHC-Methodik ist.

Alternativ kann normale humane proliferative Gebärmutter-schleimhaut als positive Kontrolle verwendet werden. Es ergibt sich eine positive Zellkernfärbung des Drüsenepithels sowie der Zellen im Stroma und der glatten Muskulatur. Endometriales Gewebe färbt sich jedoch möglicherweise nicht schwach genug, um einen geringfügigen Reagenzabbau oder Probleme mit der IHC-Methodik festzustellen.

Es ist optimale Laborpraxis, einen positiven Kontrollschnitt auf denselben Objektträger zu platzieren, auf dem sich auch das Testgewebe befindet. Auf diese Weise können Fehler bei Anwendung der Reagenzien auf den Objektträger erkannt werden. Gewebe mit schwach positiver Färbung ist zur Qualitätskontrolle am besten geeignet.

Nachweislich positive Gewebekontrollen dürfen nur zur Kontrolle der korrekten Leistung von aufbereitetem Gewebe und von Testreagenzien verwendet werden und nicht zur Unterstützung bei der Erstellung einer bestimmten Diagnose ausgehend von den Patientenproben. Wenn mit der positiven Gewebekontrolle keine positive Färbung nachgewiesen werden kann, gelten die Ergebnisse der Testproben als ungültig.

### NEGATIVE GEWEBEKONTROLLE

Bei jedem Färbelauf ist eine Gewebekontrolle zu verwenden, von der bekannt ist, dass sie auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, aufbereitet und eingebettet wurde, um die Spezifität des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers zum Nachweis des ER zu verifizieren und Aufschluss über spezifische Hintergrundfärbung (falsch-positive Färbung) zu erhalten. Auch die Vielzahl verschiedener Zelltypen in den meisten Gewebeschnitten kann als interne Negativkontrolle verwendet werden, um die Leistungswerte des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers zu verifizieren. Beispielsweise kann dasselbe Gewebe (Gebärmutter-schleimhaut), das für die positive Gewebekontrolle verwendet wird, auch als negative Gewebekontrolle verwendet werden. In Zellen, in denen keine Färbung erwartet wird, dürfen die entsprechenden Bestandteile (Zytoplasma, Zellmembran) keine spezifische Färbung aufweisen, um Aufschluss auf spezifische Hintergrundfärbung zu liefern. Auch die negative Gewebekontrolle sollte als Unterstützung bei der Interpretation der Ergebnisse herangezogen werden. Die Vielfalt der verschiedenen Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorhanden sind, ist häufig als negative Kontrolle geeignet, dies sollte jedoch vom Benutzer überprüft werden. Wenn in der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung auftritt, gelten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig.

### NEGATIVE REAGENZKONTROLLE

Für jede Probe muss eine negative Reagenzkontrolle durchgeführt werden, um die Interpretation der Ergebnisse zu unterstützen. Eine negative Reagenzkontrolle wird anstelle des primären Antikörpers zur Bewertung von unspezifischer Färbung und für eine bessere Interpretation der spezifischen Färbung an der Antigenstelle durchgeführt. Dies gibt Aufschluss über die unspezifische Hintergrundfärbung auf jedem Objektträger. Der Objektträger wird nicht mit dem primären Antikörper, sondern mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbt, einem gereinigten nichtimmunogenen Kaninchen-IgG, das nicht mit humanen Proben reagiert. Wenn ein alternatives Reagenz als negative Kontrolle verwendet wird, wird dieses mit Antibody Diluent auf die gleiche Verdünnung wie das primäre Antikörper-Antiserum gebracht. Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper enthält noch etwa 0,2 % fötales Kälberserum. Es ist auch möglich, 0,2 % fötales Kälberserum in Antibody Diluent zuzugeben und es als unspezifische negative Reagenzkontrolle zu verwenden. Die Inkubationsdauer für die negative Reagenzkontrolle sollte der für den primären Antikörper geltenden Inkubationsdauer entsprechen.

Wenn Panels mit mehreren Antikörpern auf Serienschnitten verwendet werden, kann eine negative Reagenzkontrolle auf einem Objektträger als negative Kontrolle oder als Kontrolle für unspezifische Hintergrundbindung für andere Antikörper dienen.

### ASSAY-VERIFIZIERUNG

Vor der erstmaligen Verwendung dieses Antikörpers in einem diagnostischen Verfahren oder bei einer Änderung der Chargennummer sollte die Spezifität des Antikörpers durch

Färben einer Reihe von positiven und negativen Gewebe mit bekannten Leistungsmerkmalen überprüft werden. Zuvor sind die in diesem Abschnitt der Produktbeilage beschriebenen Qualitätskontrollverfahren und die Empfehlungen zur Qualitätskontrolle in der Anatomic Pathology Checklist des College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program oder der CLSI Approved Guideline oder in beiden Dokumenten zu beachten.<sup>20,21</sup> Diese Qualitätskontrollverfahren müssen für jede neue Antikörpercharge oder immer dann wiederholt werden, wenn sich die Chargennummer eines der Reagenzien in einem aufeinander abgestimmten Set oder die Assay-Parameter ändern. Mit einem Einzelreagenz kann keine sinnvolle Qualitätskontrolle durchgeführt werden, da die aufeinander abgestimmten Reagenzien zusammen mit einem definierten Assay-Protokoll gemeinsam getestet werden müssen, bevor ein Kit für diagnostische Zwecke verwendet wird. Für die Assay-Verifizierung sind die in der Zusammenfassung der erwarteten Ergebnisse aufgeführten Gewebe geeignet. Alle Anforderungen an die Qualitätskontrolle sind im Einklang mit allen geltenden Vorschriften oder Akkreditierungsvorgaben einzuhalten.

### AUSWERTUNG DER FÄRBUNG / ERWARTETE ERGEBNISSE

Das automatisierte VENTANA Immunfärbeverfahren bewirkt, dass an den Stellen, an denen das Antigen von dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper lokalisiert wurde, ein farbiges Reaktionsprodukt ausfällt. Ein qualifizierter, mit Immunhistochemie-Verfahren vertrauter Pathologe muss zunächst die positiven und negativen Gewebekontrollen auswerten und das gefärbte Produkt qualifizieren, bevor die Ergebnisse interpretiert werden können. Der Estrogenrezeptorstatus wird durch den Prozentsatz der gefärbten Tumorzellen bestimmt. Ein Fall gilt als ER-positiv, wenn in mindestens 1 % der Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorliegt.<sup>13</sup> Eventuell ist eine spezifische Färbung von Stroma und Lymphozyten zu beobachten. Bei der Bewertung dieser Objektträger darf nur die Zellkernfärbung in Tumorzellen berücksichtigt werden.

#### Positive Gewebekontrolle

Als erstes sollte die mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper gefärbte positive Gewebekontrolle überprüft werden, um sicherzustellen, dass alle Reagenzien korrekt funktionieren. Positive Reaktivität ist an dem Vorhandensein eines braunen Reaktionsprodukts (3,3'-Diaminobenzidintetrachlorid, DAB) im Zellkern der Zielzellen erkennbar. Ein Beispiel eines Gewebes, das als positive Kontrolle verwendet werden kann, ist das Gewebe eines bekanntermaßen schwach positiven Mammakarzinoms, bei dem z. B. der Zellkern von  $\geq 1\%$  Tumorzellen positiv sein sollte. Auch normale humane Gebärmutter-schleimhaut ist geeignet. In der normalen Gebärmutter-schleimhaut ist die ER-Färbung im Zellkern der endometrialen Drüsen und im Stroma vorhanden. Wenn mit den positiven Gewebekontrollen keine angemessene positive Färbung nachgewiesen werden kann, gelten alle Ergebnisse der Testproben als ungültig.

#### Negative Gewebekontrolle

Nach der positiven Gewebekontrolle sollte die negative Gewebekontrolle untersucht werden, um die spezifische Markierung des Zielantigens durch den primären Antikörper zu verifizieren. Das Fehlen einer spezifischen Färbung in der negativen Gewebekontrolle bestätigt das Fehlen einer Antikörper-Kreuzreaktivität mit Zellen oder Zellbestandteilen. Auch das als Positivkontrolle verwendete Mammakarzinom kann als negatives Kontrollgewebe verwendet werden. Bestimmte Bestandteile des Stromas, von denen bekannt ist, dass sie ER-negativ sind, zum Beispiel Endothelzellen, sollten keine Zellkernfärbung aufweisen. Wenn in der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung vorhanden ist, gelten die Ergebnisse mit der Patientenprobe als ungültig. Sofern vorhanden, hat eine unspezifische Färbung ein diffuses Muster. In Gewebeschnitten, die sehr stark formalinfixiert sind, kann eine sporadische leichte Färbung des Bindegewebes festgestellt werden. Für die Interpretation der Färbegergebnisse sollten intakte Zellen verwendet werden, da nekrotische oder degenerierte Zellen häufig eine unspezifische Färbung zeigen.<sup>22</sup>

#### Patientengewebe

Die mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper gefärbten Patientenproben sollten zuletzt untersucht werden. Die Intensität der positiven Färbung sollte in Relation zu der unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle eingestuft werden. Der ER ist möglicherweise auch bei anderen Neoplasien festzustellen, beispielsweise bei Ovarial- und Endometriumkarzinomen.<sup>13</sup> Bei jeder Gewebeprobe sollte im Zusammenhang mit der Interpretation eines immunhistochemischen Ergebnisses auch die Morphologie unter Verwendung eines mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Schnitts untersucht werden. Die morphologischen Ergebnisse eines Patienten und die dazugehörigen klinischen Daten müssen von einem qualifizierten Pathologen ausgewertet werden. Spezifische Angaben zur Immunreaktivität sind den Abschnitten

„Zusammenfassung und Erklärung“, „Einschränkungen“ und „Zusammenfassung der erwarteten Ergebnisse“ zu entnehmen.

### EINSCHRÄNKUNGEN

#### Allgemeine Einschränkungen

1. Die IHC ist ein aus mehreren Schritten bestehendes Diagnoseverfahren, das hinsichtlich der Wahl der geeigneten Reagenzien und Gewebeproben sowie bezüglich Fixierung, Aufbereitung und Vorbereitung des Objektträgers für die Immunhistochemie und der Interpretation der Färbegergebnisse eine besondere Schulung erfordert.
2. Die Gewebefärbung ist von sachgemäßer Behandlung und Aufbereitung des Gewebes vor dem Färben abhängig. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder die Kontamination mit anderen Geweben oder mit Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können die Folge von Abweichungen bei Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder von dem Gewebe inhärenten Unregelmäßigkeiten sein.
3. Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
4. Die klinische Interpretation einer positiven Gewebefärbung oder deren Fehlen muss im Kontext der klinischen Vorgeschichte, der Morphologie und sonstiger histopathologischer Kriterien erfolgen. Die klinische Interpretation einer eventuellen Färbung oder deren Fehlen muss durch morphologische Untersuchungen und geeignete Kontrollen sowie durch andere diagnostische Tests ergänzt werden. Dieser Antikörper ist für die Verwendung in einem Antikörperpanel bestimmt. Es liegt in der Verantwortung des qualifizierten Pathologen, zum Erhalt der gefärbten Präparate mit den zur Färbung verwendeten Antikörpern, Reagenzien und Methoden vertraut zu sein. Die Färbung muss in einem zertifizierten, lizenzierten Labor unter der Aufsicht eines Pathologen durchgeführt werden, der für die Überprüfung der gefärbten Objektträger sowie die Sicherstellung adäquater positiver und negativer Kontrollen verantwortlich ist.
5. Ventana liefert Antikörper und Reagenzien in der optimalen Konzentration zur Verwendung entsprechend der Gebrauchsanweisung. Abweichungen von den empfohlenen Testverfahren können die erwarteten Ergebnisse ungültig machen. Es müssen entsprechende Kontrollen durchgeführt und dokumentiert werden. Benutzer, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, tragen die Verantwortung für die Interpretation der Patientenergebnisse.
6. Dieses Produkt ist nicht auf die Anwendung in der Durchflusszytometrie ausgelegt, und es liegen keine Leistungsmerkmale vor.
7. Bei Gewebe, das im Vorfeld nicht getestet wurde, können unerwartete Reaktionen mit den verwendeten Reagenzien auftreten. Aufgrund der biologischen Variabilität der Antigenexpression in Neoplasien oder anderen pathologischen Geweben können unerwartete Reaktionen auch bei getesteten Gewebegruppen nicht vollkommen ausgeschlossen werden.<sup>22</sup> Wenn unerwartete Reaktionen dokumentiert werden, ist der zuständige Kundendienst zu benachrichtigen.
8. Gewebeproben von Personen mit Hepatitis-B-Infektion und mit dem Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) können mit Meerrettich-Peroxidase eine unspezifische Färbung aufweisen.<sup>23</sup>
9. Normalseren derselben tierischen Herkunft wie die sekundären Antiseren können bei Verwendung in Blockierungsschritten aufgrund von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern zu falsch-negativen oder falsch-positiven Ergebnissen führen.
10. Falsch-positive Ergebnisse können durch nicht immunologische Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten entstehen. Sie können je nach Art der verwendeten Immunfärbung auch durch Pseudoperoxidase-Aktivität (Erythrozyten), endogene Peroxidase-Aktivität (Cytochrom C) oder endogenes Biotin (Beispiel: Leber, Gehirn, Brust, Niere) verursacht werden.<sup>24</sup>
11. Wie bei jedem IHC-Test bedeutet ein negatives Ergebnis lediglich, dass das fragliche Antigen nicht nachgewiesen wurde, nicht jedoch, dass das Antigen in den untersuchten Zellen/Geweben nicht vorhanden ist.

#### Spezifische Einschränkungen

1. In Kombination mit VENTANA Nachweis kits und Hilfsreagenzien erkennt der Antikörper Antigen, das auch nach routinemäßiger Formalinfixierung, Gewebepreparation und Schneiden noch vorhanden ist. Benutzer, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, tragen die Verantwortung für die Interpretation und Validierung der Patientenergebnisse.

- Ein negatives Ergebnis mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper schließt das Vorhandensein des ER nicht aus. Negative Ergebnisse in Mammakarzinomen können auf einen Verlust oder eine deutliche Abnahme der Antigenexpression zurückzuführen sein. Daher wird empfohlen, diesen Antikörper in einem Panel von Antikörpern, einschließlich solcher gegen den Progesteronrezeptor, zu verwenden.
- Es sind möglicherweise nicht alle Assays auf jedem Gerät registriert. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Roche-Vertreter vor Ort.

## LEISTUNGSMERKMALE

### ANALYTISCHE LEISTUNG

Es wurden Färbetests auf Sensitivität, Spezifität und Präzision durchgeführt; die Ergebnisse sind unten aufgeführt.

#### Sensitivität und Spezifität

Die Immunreaktivität des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers wurde durch Färbung mehrerer Fälle von normalem Humangewebe bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 aufgeführt.

**Tabelle 4.** Sensitivität/Spezifität des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers wurden durch das Testen von normalem FFPE-Gewebe bestimmt.

| Gewebe             | Anzahl positiver/aller Fälle | Gewebe                 | Anzahl positiver/aller Fälle |
|--------------------|------------------------------|------------------------|------------------------------|
| Großhirn           | 0/5                          | Speiseröhre            | 0/3                          |
| Kleinhirn          | 0/3                          | Magen                  | 0/3                          |
| Nebenniere         | 0/3                          | Dünndarm               | 0/3                          |
| Eierstock          | 1/3                          | Dickdarm               | 0/3                          |
| Bauchspeicheldrüse | 0/3                          | Leber                  | 0/3                          |
| Nebenschilddrüse   | 0/4                          | Speicheldrüse          | 0/3                          |
| Hirnanhangsdrüse   | 3/3                          | Niere                  | 0/3                          |
| Hoden              | 0/3                          | Prostata               | 2/3                          |
| Schilddrüse        | 1/5                          | Blase                  | 0/5                          |
| Brust <sup>a</sup> | 12/12                        | Gebärmutterschleimhaut | 3/3                          |
| Milz               | 0/3                          | Gebärmutterhals        | 1/3                          |
| Tonsille           | 1/3                          | Skelettmuskel          | 0/3                          |
| Thymus             | 0/3                          | Haut <sup>b</sup>      | 0/5                          |
| Knochenmark        | 0/3                          | Nerv                   | 0/3                          |
| Lunge              | 0/3                          | Mesothel               | 0/3                          |
| Herz               | 0/3                          |                        |                              |

<sup>a</sup> Zu den Geweben gehört auch faseriges Fettgewebe.

<sup>b</sup> Das Gewebe umfasst die Brustwarze.

Die Immunreaktivität des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers wurde durch Färbung mehrerer Fälle von neoplastischem Humangewebe bestimmt. Die Fälle galten als ER-positiv, wenn bei mindestens  $\geq 1\%$  der invasiven Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorlag.<sup>13</sup> Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 aufgeführt.

**Tabelle 5.** Sensitivität/Spezifität des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers wurden durch das Testen von verschiedenen neoplastischen FFPE-Geweben bestimmt.

| Pathologie             | Anzahl positiver/aller Fälle |
|------------------------|------------------------------|
| Glioblastom (Cerebrum) | 0/1                          |

| Pathologie                                      | Anzahl positiver/aller Fälle |
|---|------------------------------|
| Meningeom (Cerebrum)                            | 0/1                          |
| Ependyom (Cerebrum)                             | 0/1                          |
| Oligodendrogliom (Cerebellum)                   | 0/1                          |
| Seröses Adenokarzinom (Ovarien)                 | 0/1                          |
| Muzinöses Adenokarzinom (Ovarien)               | 0/1                          |
| Neuroendokrine Neoplasie (Pankreas)             | 0/1                          |
| Adenokarzinom (Pankreas)                        | 0/1                          |
| Seminom (Hoden)                                 | 0/1                          |
| Embryonalkarzinom (Hoden)                       | 0/1                          |
| Medulläres Karzinom (Schilddrüse)               | 0/1                          |
| Papilläres Karzinom (Schilddrüse)               | 0/1                          |
| Duktales Karzinom in situ (Brust)               | 1/3                          |
| Invasives duktales Karzinom (Brust)             | 9/20                         |
| Invasives lobuläres Karzinom (Brust)            | 2/3                          |
| Medulläres Karzinom (Brust)                     | 0/1                          |
| Papilläres Karzinom (Brust)                     | 1/1                          |
| Mammakarzinom (metastasiert)                    | 0/5                          |
| B-Zell-Lymphom; NOS (Milz)                      | 0/1                          |
| Kleinzelliges Karzinom (Lunge)                  | 0/1                          |
| Plattenepithelkarzinom (Lunge)                  | 0/1                          |
| Adenokarzinom (Lunge)                           | 0/1                          |
| Plattenepithelkarzinom (Ösophagus)              | 0/1                          |
| Adenokarzinom (Ösophagus)                       | 0/1                          |
| Muzinöses Adenokarzinom (Magen)                 | 0/1                          |
| Adenokarzinom (Darm)                            | 0/1                          |
| Maligne gemischte mesenchymale Neoplasie (Darm) | 0/1                          |
| Adenokarzinom (Kolon)                           | 0/1                          |
| Maligne mesenchymale Mischneoplasie (Kolon)     | 0/1                          |
| Adenokarzinom (Rektum)                          | 0/1                          |
| Maligne mesenchymale Mischneoplasie (Rektum)    | 0/1                          |
| Melanom (Rektum)                                | 0/1                          |
| Hepatozelluläres Karzinom (Leber)               | 0/1                          |
| Hepatoblastom (Leber)                           | 0/1                          |
| Klärzellkarzinom (Niere)                        | 0/1                          |
| Adenokarzinom (Prostata)                        | 1/1                          |
| Urothelkarzinom (Prostata-Urethra)              | 1/1                          |

| Pathologie  | Anzahl positiver/aller Fälle |
|---|------------------------------|
| Leiomyom (Uterus)                                       | 1/1                          |
| Adenokarzinom (Uterus)                                  | 2/2                          |
| Klärzellkarzinom (Uterus)                               | 0/1                          |
| Platteneithelkarzinom (Zervix)                          | 0/1                          |
| Embryonales Rhabdomyosarkom (quergestreifte Muskulatur) | 0/1                          |
| Basalzellkarzinom (Haut)                                | 0/1                          |
| Platteneithelkarzinom (quergestreifte Muskulatur)       | 0/1                          |
| Neurofibrom (Mediastinum)                               | 0/1                          |
| Neuroblastom (Retroperitoneum)                          | 0/1                          |
| Spindelzell-Rhabdomyosarkom (Retroperitoneum)           | 0/1                          |
| Mesotheliom (Peritoneum)                                | 0/1                          |
| Hodgkin-Lymphom (Lymphknoten)                           | 0/1                          |
| Lymphom, NOS (Lymphknoten)                              | 0/2                          |
| B-Zell-Lymphom, NOS (Lymphknoten)                       | 0/1                          |
| Urothelkarzinom (Blase)                                 | 0/1                          |
| Osteosarkom (Knochen)                                   | 0/1                          |
| Leiomyosarkom (glatte Muskulatur)                       | 0/1                          |

Die Sensitivität hängt von der Konservierung des Antigens ab. Unsachgemäße Handhabung des Gewebes beim Fixieren, Schneiden, Einbetten oder Aufbewahren führt zu einer Veränderung der Antigenität, was den ER-Nachweis mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper abschwächt und zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann.

#### Präzision des BenchMark XT und des BenchMark ULTRA Geräts

Im Rahmen der Präzisionstests wurden sechs individuelle Gewebefälle gefärbt. Von den sechs Geweben wiesen zwei eine hohe ER-Expression und zwei eine niedrige ER-Expression auf und zwei waren ER-negativ, basierend auf folgenden Grenzwerten: < 1 % gefärbte Tumorzellen bei negativer Expression, 1-10 % gefärbte Tumorzellen bei schwacher Expression und > 10 % gefärbte Tumorzellen bei hoher Expression.

Für den Test der Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs wurden 9 Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf einem BenchMark XT Gerät gefärbt. Diese Testkonfiguration wurde auch auf einem BenchMark ULTRA Gerät verwendet. Die Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper war sowohl auf dem BenchMark XT als auch auf dem BenchMark ULTRA Gerät auf allen positiven Geweben aller sechs Fälle zu 100 % konkordant. Die mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbten Objektträger waren hinsichtlich Signal und Hintergrund akzeptabel.

Für den Test der Inter-Tages-Laborpräzision wurden in fünf separaten, nicht aufeinander folgenden Läufen, die in einem Zeitraum von 20 Tagen durchgeführt wurden, vier Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf demselben BenchMark XT Gerät gefärbt. Diese Testkonfiguration wurde auch auf einem BenchMark ULTRA Gerät verwendet. Die Inter-Tages-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper war sowohl auf dem BenchMark XT als auch auf dem BenchMark ULTRA Gerät auf allen positiven Geweben aller sechs Fälle zu 100 % konkordant. Die mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbten Objektträger waren hinsichtlich Signal und Hintergrund akzeptabel.

Für den Test der Inter-Geräte-Laborpräzision auf BenchMark XT Geräten wurden 4 Objektträger von sechs Fällen auf drei separaten BenchMark XT Geräten mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper gefärbt. Ein Objektträger jedes Falls wurde mit dem

CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper gefärbt. Die Inter-Geräte-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf drei BenchMark XT Geräten war bei allen sechs Fällen zu 100 % konkordant. Die mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbten Objektträger waren hinsichtlich Signal und Hintergrund akzeptabel.

Für den Test der Inter-Geräte-Laborpräzision auf BenchMark ULTRA Geräten wurden 4 Objektträger von sechs Fällen auf drei separaten BenchMark ULTRA Geräten mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper gefärbt. Ein Objektträger jedes Falls wurde mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper gefärbt. Die Inter-Geräte-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf drei BenchMark ULTRA Geräten war bei allen sechs Fällen zu 100 % konkordant. Die mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbten Objektträger waren hinsichtlich Signal und Hintergrund akzeptabel.

#### Präzision auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät

Im Rahmen der Präzisionstests wurden neun individuelle Gewebefälle gefärbt. Von den neun Geweben wiesen drei eine hohe ER-Expression und drei eine niedrige ER-Expression auf und drei waren ER-negativ, basierend auf folgenden Grenzwerten: < 1 % gefärbte Tumorzellen bei negativer Expression, 1-10 % gefärbte Tumorzellen bei schwacher Expression und > 10 % gefärbte Tumorzellen bei hoher Expression.

Für den Test der Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs wurden fünf Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf einem BenchMark ULTRA PLUS Gerät gefärbt. Die Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät war zu 100 % konkordant. Die mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbten Objektträger waren hinsichtlich Signal und Hintergrund akzeptabel.

Für den Test der Inter-Tages-Laborpräzision wurden in fünf separaten, nicht aufeinander folgenden Läufen, die in einem Zeitraum von 20 Tagen durchgeführt wurden, zwei Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf demselben BenchMark ULTRA PLUS Gerät gefärbt. Die Inter-Tages-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät war zu 100 % konkordant. Die mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbten Objektträger waren hinsichtlich Signal und Hintergrund akzeptabel.

Für den Test der Inter-Geräte-Laborpräzision auf BenchMark ULTRA PLUS Geräten wurden zwei Objektträger von jedem Fall auf drei separaten BenchMark ULTRA PLUS Geräten mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper gefärbt. Ein Objektträger jedes Falls wurde mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper gefärbt. Die Inter-Geräte-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf drei BenchMark ULTRA PLUS Geräten war zu 100 % konkordant.

#### Inter-Labor-Reproduzierbarkeit

Unter Verwendung von 14 Objektträgern mit Mammakarzinomproben (8 positive, 2 schwach positive, 4 negative) auf 3 BenchMark XT und 3 BenchMark ULTRA Geräten mit Nachweis mittels *VIEW* DAB und *ultraView* DAB wurde an jedem von 5 nicht aufeinanderfolgenden Tagen in einem Zeitraum von mindestens 20 Tagen in 3 externen Labors eine Untersuchung der Inter-Labor-Reproduzierbarkeit mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper durchgeführt. Die Proben wurden randomisiert und von insgesamt 6 Pathologen (2 Pathologen je Einrichtung) hinsichtlich des prozentualen Anteils gefärbter Tumorzellen ausgewertet. Ein Fall galt als ER-positiv, wenn in mindestens 1 % der invasiven Tumorzellen eine Färbung des Zellkerns vorlag.<sup>13</sup>

Was die Inter-Labor-Präzision anbelangt, so betrug die Rate der durchschnittlichen positiven Übereinstimmung (APA) und der durchschnittlichen negativen Übereinstimmung (ANA) zur klinischen Beurteilung des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers 94.3 % bzw. 87.9 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *VIEW*; 94.2 % bzw. 85.8 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *ultraView*; 95.6 % bzw. 90.9 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *VIEW* und 94.2 % bzw. 85.3 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *ultraView*.

Was die Inter-Tages-Präzision anbelangt, so betrogen die APA und die ANA zur klinischen Beurteilung des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers 97.9 % bzw. 95.5 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *VIEW*; 98.4 % bzw. 96.2 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *ultraView*; 98.0 % bzw. 95.9 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *VIEW* und 98.2 % bzw. 95.5 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *ultraView*.

Was die Inter-Ableser-Präzision anbelangt, so betrogen die APA und die ANA zur klinischen Beurteilung des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers 95.7 % bzw. 90.9 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *VIEW*; 94.1 % bzw. 85.7 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *ultraView*; 94.9 % bzw. 89.6 % auf dem

BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *VIEW* und 93.4 % bzw. 83.6 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *ultraView*.

Bezüglich der Inter-Plattform-Präzision beim Vergleich der BenchMark ULTRA und BenchMark XT Geräte betrug die APA- und ANA-Rate 97.8 % bzw. 95.5 % bei Anwendung von *VIEW* Nachweis, und 98.9 % bzw. 97.4 % bei Anwendung von *ultraView* Nachweis.

Bezüglich der Intra-Plattform-Präzision betrug die APA- und ANA-Rate 97.9 % bzw. 95.2 % mit dem BenchMark ULTRA Gerät und 97.8 % bzw. 95.0 % auf dem BenchMark XT Gerät.

#### Vergleich zwischen *VIEW* DAB Detection Kit und *ultraView* Universal DAB Detection Kit mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper

Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper wurde für einen Vergleich der Nachweisleistung zwischen zwei Geräten (BenchMark XT und BenchMark ULTRA) mit *VIEW* DAB Detection Kit und *ultraView* Universal DAB Detection Kit verwendet. Für den Test wurden einhundertneundneunzig (199) Gewebefälle verwendet. Von den auswertbaren Fällen erwiesen sich auf dem BenchMark ULTRA Gerät 111 als positiv und 83 als negativ (das Beurteilungskriterium war der prozentuale Anteil der gefärbten Tumorzellen). Die gefärbten Objektträger wurden von Pathologen ausgewertet, die den prozentualen Anteil der gefärbten Tumorzellen bestimmten. Ein Fall galt als ER-positiv, wenn in mindestens 1 % der Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorlag.

Die Rate der morphologischen Akzeptanz und die Rate der Hintergrundakzeptanz betragen mit beiden Nachweiskits und Geräten jeweils 100 %. Direktvergleiche zwischen Nachweiskits zur positiven und negativen klinischen Beurteilung auf jedem Gerät sind in Tabelle 6 für das BenchMark ULTRA Gerät und in Tabelle 7 für das BenchMark XT Gerät angegeben.

**Tabelle 6.** Beurteilung von *ultraView* Universal DAB Detection Kit im Vergleich zu *VIEW* DAB Detection Kit auf dem BenchMark ULTRA Gerät.

| <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit | <i>VIEW</i> DAB Detection Kit |                    |        |
|--|-------------------------------|--------------------|--------|
|  | Positiv                       | Negativ            | Gesamt |
| Positiv                                      | 108                           | 3                  | 111    |
| Negativ                                      | 3                             | 80                 | 83     |
| Gesamt                                       | 111                           | 83                 | 194    |
|  | <b>n/N</b>                    | <b>% (95 %-CI)</b> |        |
| Positive prozentuale Übereinstimmung         | 108/111                       | 97.3 (92.4-99.1)   |        |
| Negative prozentuale Übereinstimmung         | 80/83                         | 96.4 (89.9-98.8)   |        |
| Prozentuale Gesamtübereinstimmung            | 188/194                       | 96.6 (93.4-98.6)   |        |

**Tabelle 7.** Beurteilung von *ultraView* Universal DAB Detection Kit im Vergleich zu *VIEW* DAB Detection Kit auf dem BenchMark XT Gerät.

| <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit | <i>VIEW</i> DAB Detection Kit |                    |        |
|--|-------------------------------|--------------------|--------|
|  | Positiv                       | Negativ            | Gesamt |
| Positiv                                      | 106                           | 5                  | 111    |
| Negativ                                      | 2                             | 79                 | 81     |
| Gesamt                                       | 108                           | 84                 | 192    |
|  | <b>n/N</b>                    | <b>% (95 %-CI)</b> |        |
| Positive prozentuale Übereinstimmung         | 106/108                       | 98.1 (93.5-99.5)   |        |
| Negative prozentuale Übereinstimmung         | 79/84                         | 94.0 (86.8-97.4)   |        |

| <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit | <i>VIEW</i> DAB Detection Kit |                  |        |
|--|-------------------------------|------------------|--------|
|  | Positiv                       | Negativ          | Gesamt |
| Prozentuale Gesamtübereinstimmung            | 185/192                       | 96.4 (92.7-98.2) |        |

Die Gesamtübereinstimmung der Bewertung zwischen den Nachweiskits für beide Plattformen betrug 96.9 % (n = 194) bzw. 96.4 % (n = 192) für das BenchMark ULTRA bzw. das BenchMark XT Gerät. Was die Beurteilung der Färbung anbelangt, ergaben sich zwischen *ultraView* Universal DAB Detection Kit und *VIEW* DAB Detection Kit eine Übereinstimmungsrate von 93.3 % (n = 194) bzw. 93.8 % (n = 192).

#### Vergleich zwischen dem BenchMark XT und dem BenchMark ULTRA Gerät

In einer randomisierten, multizentrischen Studie mit mehreren Ablesern wurde die Färbeleistung des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers auf dem BenchMark ULTRA Gerät und auf dem BenchMark XT Gerät verglichen. Einhundertzwanzig (120) ER-negative und 132 ER-positive Fälle von Brustkrebs, die den klinischen Bereich des Assays repräsentierten, wurden durch Randomisierung drei Prüfzentren zugewiesen, sodass jede Einrichtung die gleiche Anzahl von Fällen erhielt und die jeweiligen Fälle alle klinischen Beurteilungskategorien repräsentierten. In jeder Einrichtung wurden die zugewiesenen Fälle mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf einem BenchMark ULTRA Gerät und mit dem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf einem BenchMark XT Gerät gefärbt. Die gefärbten Objektträger wurden von Pathologen ausgewertet, die den prozentualen Anteil der gefärbten Tumorzellen bestimmten. Ein Fall galt als ER-positiv, wenn in mindestens  $\geq 1\%$  der invasiven Tumorzellen eine Färbung des Zellkerns vorlag.<sup>13</sup>

**Tabelle 8.** Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA Gerät und der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf dem BenchMark XT Gerät.

| BenchMark XT Gerät                   | BenchMark ULTRA Gerät |                    |        |
|--------------------------------------|-----------------------|--------------------|--------|
|                                      | Positiv               | Negativ            | Gesamt |
| Positiv                              | 99                    | 8                  | 107    |
| Negativ                              | 11                    | 91                 | 102    |
| Gesamt                               | 110                   | 99                 | 209    |
|                                      | <b>n/N</b>            | <b>% (95 %-CI)</b> |        |
| Positive prozentuale Übereinstimmung | 99/107                | 92.5 (85.9-96.2)   |        |
| Negative prozentuale Übereinstimmung | 91/102                | 89.2 (81.7-93.9)   |        |
| Prozentuale Gesamtübereinstimmung    | 190/209               | 90.9 (86.2-94.1)   |        |

Die Rate der morphologischen Akzeptanz für alle in dieser Studie gefärbten Objektträger betrug 100 % (95%-KI 98.5 %-100 %) auf dem BenchMark ULTRA Gerät und 94.0 % (95%-CI 90.4 %-96.4 %) auf dem BenchMark XT Gerät. Die Rate der Hintergrundakzeptanz betrug 94.8 % (95%-KI 91.4 %-97.0 %) auf dem BenchMark ULTRA Gerät und 90.9 % (95%-CI 86.7 %-93.8 %) auf dem BenchMark XT Gerät.

#### Vergleich zwischen dem BenchMark ULTRA und dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät

In einer Studie wurde die Färbeleistung des CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörpers auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät und auf dem BenchMark ULTRA Gerät verglichen. Es wurde Gewebe von einhundertzwanzig (120) Brustkrebsfällen (54 ER-positiv, 54 ER-negativ und 12 grenzwertig ER-positiv), die den klinischen Bereich des Assays abdeckten, gefärbt. Die gefärbten Objektträger wurden von Pathologen ausgewertet, die den prozentualen Anteil der gefärbten Tumorzellen bestimmten. Ein Fall galt als ER-positiv, wenn bei mindestens  $\geq 1\%$  der invasiven Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorlag.<sup>13</sup> In Tabelle 9 sind die Übereinstimmungsraten zwischen den auf jedem Gerät gefärbten Fällen aufgeführt.

**Tabelle 9.** Der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät und der CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA Gerät (ausgenommen grenzwertig positive Fälle).

| BenchMark ULTRA PLUS Gerät           | BenchMark ULTRA Gerät |                    |        |
|--------------------------------------|-----------------------|--------------------|--------|
|                                      | Positiv               | Negativ            | Gesamt |
| Positiv                              | 53                    | 0                  | 53     |
| Negativ                              | 0                     | 53                 | 53     |
| Gesamt                               | 53                    | 53                 | 106    |
|                                      | n/N                   | % (95 %-CI)        |        |
| Positive prozentuale Übereinstimmung | 53/53                 | 100.0 (93.2-100.0) |        |
| Negative prozentuale Übereinstimmung | 53/53                 | 100.0 (93.2-100.0) |        |
| Prozentuale Gesamtübereinstimmung    | 106/106               | 100.0 (96.5-100.0) |        |

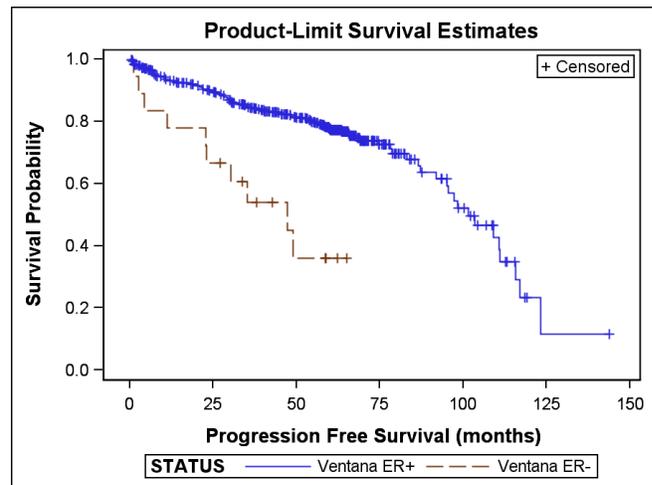
Die Rate der morphologischen Akzeptanz für alle in dieser Studie gefärbten Objektträger betrug 99.2% (95 %-KI 95.4% bis 99.9%) auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät. Die Rate der Hintergrundakzeptanz betrug 100.0 % (95 %-KI 96.8% bis 100.0 %) auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät.

#### KLINISCHE LEISTUNG

##### Vergleich mit dem Patientenergebnis

Unter Verwendung von Proben von 511 Fällen mit invasivem Mammakarzinom aus einer klinischen Kohorte von 820 Patienten wurde eine randomisierte monozentrische Studie mit mehreren Ablesem durchgeführt. Verglichen wurden die Ergebnisse bezüglich des progressionsfreien Überlebens bei Patienten mit unterschiedlichem CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörperstatus, bestimmt auf dem BenchMark ULTRA Gerät. Ein Fall wurde in die Analysen einbezogen, wenn bei dem jeweiligen Patienten ein invasives Mammakarzinom diagnostiziert und bestätigt wurde und der Patient mit einem primären chirurgischen Eingriff mit oder ohne postoperative lokale Strahlentherapie gefolgt von einer adjuvanten Tamoxifen-Hormontherapie (20 mg p.o./Tag) über 5 Jahre behandelt wurde. Von der Analyse ausgeschlossen wurden Fälle, in denen weder eine diagnostische Biopsie noch primäre chirurgische Gewebeproben verfügbar waren, wenn bereits früher eine Krebsdiagnose (mit Ausnahme von nicht melanomatösem Hautkrebs) gestellt worden war oder wenn der Patient eine vorhergehende oder adjuvante Chemotherapie erhalten hatte. Auf dem BenchMark ULTRA Gerät wurden insgesamt 1907 Gewebe-Mikroarrays mit Primärtumor gefärbt. Die gefärbten Objektträger wurden von drei unabhängigen Pathologen, die den Prozentsatz der gefärbten Tumorzellen bestimmten, beurteilt. Ein Fall galt als ER-positiv, wenn in mindestens  $\geq 1\%$  der invasiven Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorlag.<sup>13</sup>

Die Studie umfasste 441 Patienten mit Ventana ER-positivem (ER+) Status und 18 Patienten mit Ventana ER-negativem (ER-) Status. Eine Kaplan-Meier-Überlebenskurve nach CONFIRM anti-ER (SP1) Antikörperstatus in dem Kollektiv für die primäre Überlebensanalyse zeigte eine starke Trennung zwischen Ventana ER+- und ER--Fällen. ER+-Patienten unter Tamoxifen zeigten ein längeres Überleben als ER--Patienten; die mediane Überlebensdauer betrug bei ER+-Patienten 101.6 Monate und bei ER--Patienten 47.2 Monate. Der Log-Rang-Test ergab, dass die Differenz zwischen den Überlebenskurven statistisch signifikant war ( $P < 0.001$ ).



**Abb. 2.** Kaplan-Meier-Überlebenskurve nach Ventana ER Status.

#### FEHLERBEHEBUNG

1. Wenn die positive Kontrolle eine schwächere Färbung als erwartet aufweist, sind die anderen, parallel verwendeten positiven Kontrollen zu überprüfen, um festzustellen, ob dies auf den primären Antikörper oder eines der üblichen sekundären Reagenzien zurückzuführen ist.
2. Wenn die positive Kontrolle negativ ist, ist zu überprüfen, ob der Objektträger das richtige Barcode-Etikett aufweist. Wenn der Objektträger ordnungsgemäß gekennzeichnet ist, sind die anderen, parallel verwendeten positiven Kontrollen zu überprüfen, um festzustellen, ob das Ergebnis auf den primären Antikörper oder eines der üblichen sekundären Reagenzien zurückzuführen ist. Das Gewebe wurde möglicherweise nicht ordnungsgemäß gewonnen, fixiert oder entparaffiniert. Es sind die korrekten Verfahren zur Gewinnung, Aufbewahrung und Fixierung von Gewebe zu befolgen.
3. Bei übermäßiger Hintergrundfärbung sind möglicherweise hohe Mengen an endogenem Biotin vorhanden. In diesem Fall sollte ein Biotinblockierungsschritt durchgeführt werden.
4. Wenn nicht das gesamte Paraffin entfernt wurde, muss die Entparaffinisierung wiederholt werden.
5. Wenn die spezifische Antikörperfärbung zu intensiv ist, wird der Lauf mit einer um 4 Minuten kürzeren Inkubationszeit des primären Antikörpers wiederholt, um die gewünschte Färbungsintensität zu erreichen.
6. Wenn sich Gewebeschnitte beim Waschen vom Objektträger ablösen, sind die Objektträger zu überprüfen, um sicherzustellen, dass sie positiv geladen sind.
7. Bezüglich der Fehlerbehebung ist der Abschnitt „Schrittweises Vorgehen“ oder das Benutzerhandbuch des Geräts zu beachten oder der zuständige Kundendienst zu kontaktieren.

#### LITERATURANGABEN

1. Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen JA, et al. Estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids*. 2014;90:13-29.
2. Yasar P, Ayaz G, User SD, et al. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. *Reprod Med Biol*. 2017;16(1):4-20.
3. Tanos T, Rojo L, Echeverria P, et al. ER and PR signaling nodes during mammary gland development. *Breast Cancer Res*. 2012;14(4):210.
4. Diep CH, Ahrendt H, Lange CA. Progesterone induces progesterone receptor gene (PGR) expression via rapid activation of protein kinase pathways required for cooperative estrogen receptor alpha (ER) and progesterone receptor (PR) genomic action at ER/PR target genes. *Steroids*. 2016;114:48-58.
5. Carroll JS. Mechanisms of oestrogen receptor (ER) gene regulation in breast cancer. *Eur J Endocrinol*. 2016;175(1):R41-49.
6. Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(4):444-457.

7. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2019.
8. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Ann Oncol. 2013;24(9):2206-2223.
9. McGuire WL. Estrogen receptors in human breast cancer. J Clin Invest. 1973;52(1):73-77.
10. Vollenweider-Zerargui L, Barrelet L, Wong Y, et al. The predictive value of estrogen and progesterone receptors' concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women. Clinical correlation on 547 patients. Cancer. 1986;57(6):1171-1180.
11. Cheang MC, Treaba DO, Speers CH, et al. Immunohistochemical Detection Using the New Rabbit Monoclonal Antibody SP1 of Estrogen Receptor in Breast Cancer Is Superior to Mouse Monoclonal Antibody 1D5 in Predicting Survival. JCO. 2006;24(36):5637-5644.
12. Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. Rev Endocr Metab Disord. 2007;8(3):229-239.
13. Hammond ME, Hayes DF, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. Arch Pathol Lab Med. 2010;134(6):907-22.
14. Bae YK, Gong G, Kang J, et al. Hormone Receptor Expression in Invasive Breast Cancer Among Korean Women and Comparison of 3 Antiestrogen Receptor Antibodies - A Multi-institutional Retrospective Study Using Tissue Microarrays. Am J Surg Pathol 2012;36:1817-1825.
15. Bogina G, Zamboni G, Sapino A, et al. Comparison of Anti-Estrogen Receptor Antibodies Sp1, 6f11, and 1d5 in Breast Cancer: Lower 1d5 Sensitivity but Questionable Clinical Implications. Am J Clin Pathol. 2012;138(5):697-702.
16. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
17. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
18. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
19. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
20. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2010.
21. CLSI. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. CLSI document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
22. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
23. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5): 626-32.
24. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.

**HINWEIS:** In diesem Dokument wird statt einem Komma ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet, um die Vorkomma- von den Nachkommastellen zu trennen. Es werden keine Tausendertrennzeichen verwendet.

Eine Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung ist verfügbar auf:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

### Symbole

Ventana verwendet die folgenden Symbole und Zeichen zusätzlich zu den Symbolen und Zeichen gemäß Norm ISO 15223-1 (USA: siehe Definition der verwendeten Symbole auf [dialog. Roche.com](http://dialog. Roche.com)):



Internationale Artikelnummer



Eindeutige Gerätekennung



Verweist auf den Importeur des medizinischen Produkts in die Europäische Union

### VERSIONSVERLAUF

| Rev. | Updates  |
|------|--|
| G    | Updates der Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen sowie der analytischen Leistung. |

### GEISTIGES EIGENTUM

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView* und das VENTANA Logo sind Marken von Roche. Alle sonstigen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.  
© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

### KONTAKTDATEN



Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755  
USA  
+1 520 887 2155  
+1 800 227 2155 (USA)

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



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany  
+800 5505 6606

