

VENTANA HER2 (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody RxDx

REF 790-7167

09670564001

IVD  50

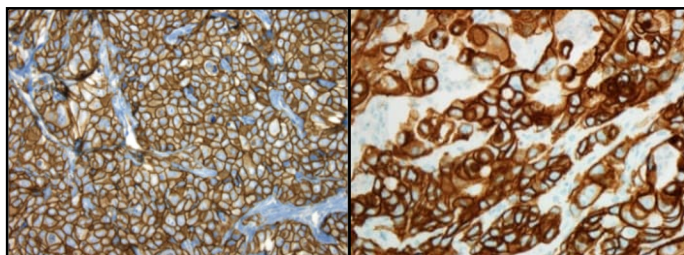


Fig 1. Colorarea cu VENTANA HER2 (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody RxDx în carcinomul mamar.

Fig 2. Colorarea 3+ cu VENTANA HER2 (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody RxDx în carcinomul gastric.

DOMENIU DE UTILIZARE

VENTANA HER2 (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody RxDx este destinat utilizării pentru detecția semicantitativă prin imunohistochimie (IHC) a antigenului HER2 în secțiuni de țesut mamar și gastric fixat în formalină, înglobat în parafină, colorat pe un instrument BenchMark IHC/ISH.

Acest dispozitiv IHC este indicat ca diagnostic auxiliar pentru identificarea pacienților cu cancer mamar care sunt eligibile pentru tratament cu trastuzumab (IHC 3+ sau IHC 2+/ISH amplificat), pertuzumab (IHC 3+ sau IHC 2+/ISH amplificat), trastuzumab emtansine (IHC 3+ sau IHC 2+/ISH amplificat) sau trastuzumab deruxtecan (IHC 1+ sau IHC 2+/ISH neamplificat). În plus, acest dispozitiv IHC este indicat ca diagnostic auxiliar pentru identificarea pacienților cu cancer gastric pentru care se ia în considerare tratamentul cu trastuzumab (IHC 3+ sau IHC 2+/ISH amplificat).

Acest produs trebuie interpretat de un patolog calificat împreună cu examinarea histologică, informațiile clinice relevante și controalele adecvate.

Acest anticorp este destinat pentru diagnosticarea in vitro (IVD).

REZUMAT ȘI EXPLICAȚIE

VENTANA HER2 (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody RxDx (VENTANA HER2 (4B5) Assay) conține un anticorp monoclonal de iepure (clona 4B5) direcționat împotriva domeniului intern al receptorului 2 al factorului de creștere epidermic uman (HER2). HER2 a fost clonată și caracterizată.¹ S-a demonstrat că clona 4B5 reacționează cu o proteină de 185 kDa din lizatele celulare SK-BR-3 prin capacitatea de absorbție Western. SK-BR-3 este o linie celulară de carcinom mamar care prezintă o supraexprimare de 128 de ori a ARNm HER2.² Dimensiunea benzii identificate este bine corelată cu cea raportată pentru proteina HER2 (185 kDa).¹ Experimentele de imunohistochimie (IHC) cu liniile celulare transfectate (HEK293) au demonstrat că clona 4B5 colorează celulele transfectate cu HER2 și celulele transfectate cu HER4, deși nu a fost observată colorarea celulelor transfectate cu HER1 sau HER3, iar datele obținute prin capacitatea de absorbție Western cu proteina HER4 recombinantă au indicat, de asemenea, că clona 4B5 recunoaște un epitop al HER4.³ În ciuda acestui fapt, nu s-a observat că HER2 (4B5) ar prezenta o reacție încrucișată cu HER4 în colorarea IHC a țesutului mamar fixat în formalină, înglobat în parafină (FFPE).⁴

HER2 este o tirozininkinază a receptorului transmembranar, care este structural similară cu receptorul factorului de creștere epidermic.^{5,6} Amplificarea genei și supraexprimarea corespunzătoare a HER2 au fost identificate într-o varietate de tumori, inclusiv carcinoame mamar.^{5,6,7} Supraexprimarea proteinelor, din cauza amplificării genei HER2, este factorul primar al tumorigenezei mediate de HER2.⁵ Amplificarea genei duce de obicei la o creștere semnificativă a receptorilor HER2 la nivelul membranei celulare.^{5,6}

Supraexprimarea HER2 îmbunătățește transducția semnalului și reglează în sens crescător proliferarea și diferențierea, provocând în cele din urmă formarea tumorii.^{5,6} Un spectru de exprimare a proteinei HER2 a fost observat în absența amplificării genelor.⁸ Au fost propuși mai mulți factori pentru a explica nivelurile intermediare ale exprimării proteinei HER2 în cazurile de cancer mamar în absența amplificării genelor, inclusiv interferența între căile de semnalizare a HER2 și a receptorilor de estrogen.^{8,9} Exprimarea proteinei HER2 care nu este considerată supraexprimare poate fi clasificată ca exprimare scăzută a HER2.^{8,10,11}

Supraexprimarea proteinei HER2 și/sau amplificarea genei are loc în adenocarcinomul gastric și cu jonțiune gastroesofagiană.^{12,13,14} O gamă largă de frecvență de supraexprimare a HER2 a fost raportată în studiile publicate. Cu toate acestea, unul dintre cele mai mari seturi de date de screening, care a inclus 3803 de pacienți cu adenocarcinom de jonțiune gastrică și gastroesofagiană, a raportat că 22% dintre pacienți au fost testați pozitivi pentru supraexprimarea proteinei HER2 sau amplificarea genei.¹⁵

SEMNIFICAȚIE CLINICĂ

Cancerul mamar este tipul de cancer cel mai frecvent diagnosticat la femei, în toată lumea.¹⁶ Detecția timpurie și selectarea adecvată a tratamentului pot influența semnificativ rata de supraviețuire generală.^{7,17} Aproximativ 15 până la 30 de cazuri de cancer mamar ductal invaziv sunt pozitive pentru HER2.^{7,10} Aproape toate cazurile de boală Paget a sânelui și până la 90% dintre cazurile de carcinom ductal in situ de tip comedon sunt pozitive.^{18,19} De peste 20 de ani, statutul pozitiv pentru HER2 definește un subgrup de pacienți cu cancer mamar care prezintă beneficii în urma tratamentului care ținește HER2.^{7,17} Categoria de pacienți cu rezultat pozitiv pentru HER2 a fost definită istoric ca acei pacienți care demonstrează supraexprimarea proteinei HER2 evaluată prin imunohistochimie (IHC) pe baza unui sistem de evaluare IHC semicantitativă pentru stabilirea scorului (0, 1+, 2+ și 3+) și/sau amplificarea genei evaluată prin hibridizare in situ (ISH).¹⁷ Pozitivitatea HER2 a fost corelată puternic cu supraexprimarea proteinelor (scorul IHC de 3+). În cazurile cu supraexprimare de limită (scor IHC 2+, echivoc), poate fi necesar un test reflex de confirmare pentru a evalua amplificarea genei conform algoritmului de evaluare HER2 stabilit.¹⁷

Medicamentele terapeutice de pe piață, inclusiv Herceptin (trastuzumab), PERJETA (pertuzumab) și KADCYLA (ado-trastuzumab emtansine/trastuzumab emtansine) au demonstrat beneficii clinice la pacienții cu HER2 prin oprirea pozitivă și, în unele cazuri, inversarea dezvoltării cancerului de sân.²⁰⁻²⁴ Trastuzumab și pertuzumab sunt anticorpi monoclonali umanizați care se leagă de proteina HER2 de la suprafața celulei și perturbă transducția semnalului mediată de HER2.^{20,24,25} Trastuzumab emtansine este un conjugat anticorp-medicament compus din trastuzumab și agentul citotoxic DM1 conjugat printr-un agent de legare neclivibil.²³ Numai pacienții cu cancer mamar pozitiv pentru HER2 (scor IHC 3+ sau 2+) cu un statut confirmat de HER2 amplificat ar trebui să beneficieze de tratament cu trastuzumab (Herceptin), pertuzumab (PERJETA) sau trastuzumab emtansine (KADCYLA).^{16,18}

Aproximativ 40-50% dintre pacienții cu cancer mamar au tumori care nu demonstrează amplificarea genei HER2 și nu supraexprimă receptorul; cu toate acestea, sunt detectate niveluri scăzute de exprimare a HER2.^{8,10} Cazurile cu exprimare scăzută a HER2 (scor IHC 1+ sau 2+ (cu un statut confirmat de HER2 neamplificată)) sunt de obicei considerate negative pentru HER2 și excluse din opțiunile de tratament țintit cu HER2.⁸ Recent, au fost observate beneficii cu tratamentul anti-HER2 trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) la paciențele cu cancer mamar cu niveluri scăzute de exprimare a HER2.^{26,27} Trastuzumab deruxtecan este un conjugat anticorp-medicament care conține o bază de anticorp monoclonal HER2 (trastuzumab), un agent de legare clivabil și un derivat de exatecan permeabil al membranei celulare (un inhibitor al topoizomerazei).¹⁰

Diagnosticile in vitro pentru evaluarea statutului HER2 la paciențele cu cancer mamar sunt importante pentru a ajuta clinicianul la determinarea terapiei cu trastuzumab (Herceptin), pertuzumab (PERJETA), trastuzumab emtansine (KADCYLA) sau trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®).¹⁷ Detecția pe bază de IHC a exprimării proteinei HER2 este folosită ca ajutor la evaluarea pacienților cu cancer mamar pentru care HER2 a vizat tratamentele cu trastuzumab (Herceptin), pertuzumab (PERJETA), trastuzumab emtansine (KADCYLA) sau trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) sunt luate în considerare.

Cancerul gastric este al cincilea cel mai frecvent cancer și o cauză principală de deces legat de cancer la nivel global.¹³ Intervențiile chirurgicale reprezintă cel mai frecvent tratament pentru cancerul gastric.^{14,28} Cu toate acestea, majoritatea cazurilor de cancer

gastric sunt detectate într-un stadiu avansat și intervenția chirurgicală este adesea dificil de efectuat.^{14,28} Chimioterapia este utilizată pentru tratarea cancerului gastric avansat, chiar dacă supraviețuirea acestor pacienți este foarte scăzută.^{14,28} Tratamentul țintit cu HER2 trastuzumab este un element de bază în gestionarea cancerului mamar invaziv și are valoare terapeutică în gestionarea pacienților cu cancer gastric care supraexprimă receptorul.^{12,14} Demonstrarea amplificării genei *HER2* și/sau a supraexprimării proteinelor este esențială pentru selectarea pacienților pentru terapia cu trastuzumab.^{12,14} Studiile clinice au arătat că pacienții cu cancer de sân sau gastric cu supraexprimare ridicată a proteinelor HER2 și/sau amplificare a genei beneficiază cel mai mult de trastuzumab.^{12,21} Detecția bazată pe IHC a exprimării proteinei HER2 este folosită ca ajutor la evaluarea pacienților cu cancer gastric pentru care se ia în considerare tratamentul cu trastuzumab (Herceptin).

PRINCIPIUL PROCEDURII

Testul VENTANA HER2 (4B5) conține un anticorp monoclonal de iepure care se leagă de HER2 în secțiunile de țesut FFPE. Anticorpul specific poate fi localizat cu ajutorul unui conjugat anticorp HRP secundar (*ultraView* Universal DAB Detection Kit). Complexul specific anticorp-enzimă este apoi vizualizat cu un produs de reacție enzimatică precipitantă. Fiecare pas este incubat la un interval de timp și o temperatură precise. La finalul fiecărui pas de incubare, instrumentul spală secțiunile pentru a opri reacția și pentru a îndepărta materialul nelegat care ar putea împiedica reacția dorită în etapele ulterioare. De asemenea, acest instrument aplică Liquid Coverslip, care reduce la minimum evaporarea reactivilor apoși de pe lama cu proba.

Cazurile clinice trebuie evaluate în contextul performanței controalelor adecvate. Se recomandă includerea unui control de țesut pozitiv fixat și prelucrat în același mod ca și proba de la pacient (de exemplu, un carcinom mamar slab pozitiv). În plus față de colorarea cu testul VENTANA HER2 (4B5), o a doua lamă trebuie colorată cu CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Pentru ca testul să fie considerat valid, țesutul de control pozitiv trebuie să prezinte colorarea membranei celulelor tumorale. Aceste componente trebuie să fie negative la colorarea cu CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. În plus, se recomandă ca un control de țesut negativ (de exemplu, un carcinom mamar sau gastric negativ pentru HER2) să fie inclus pentru fiecare serie de probe prelucrate și testate pe un instrument BenchMark IHC/ISH. Acest control de țesut negativ trebuie colorat cu VENTANA HER2 (4B5) Rx/Dx, pentru a vă asigura că îmbogățirea cu antigen și alte proceduri de tratament prealabil nu au dus la colorarea fals pozitivă.

MATERIALE FURNIZATE

Testul VENTANA HER2 (4B5) conține reactiv suficient pentru 50 de teste.

Un dozator de 5 mL de test VENTANA HER2 (4B5) conține aproximativ 30 µg de anticorp monoclonal de iepure orientat împotriva antigenului HER2 uman.

Anticorpul este diluat în soluție salină tamponată cu 0.05 M Tris, 0.01 M EDTA, 0.05% Brij-35 cu proteină transportatoare 0.3% și azidă de sodiu 0.05%, un conservant. Există o cantitate neglijabilă de ser fetal bovin, aproximativ 0.25%, prezentă încă din soluția stoc.

Concentrația specifică a anticorpului este de aproximativ 6 µg/mL.

Testul VENTANA HER2 (4B5) conține IgG de iepure diluat din supernatant de cultură celulară.

Consultați fișa adecvată de descriere a metodei din kitul de detecție VENTANA pentru descrieri detaliate ale: Principiul procedurii, Materiale și metode, Colectarea și pregătirea probelor pentru analiză, Proceduri de control de calitate, Depanare, Interpretarea rezultatelor și Limitări.

MATERIALE NECESARE, DAR CARE NU SUNT FURNIZATE

Reactivii de colorare, cum ar fi kiturile de detecție VENTANA și componentele auxiliare, inclusiv lamele de control de țesut negativ și pozitiv, nu sunt puși la dispoziție.

Este posibil să nu fie disponibile în toate zonele geografice toate produsele menționate în fișa de descriere a metodei. Consultați reprezentantul de asistență local.

Reactivii și materialele de mai jos pot fi necesari pentru colorare, dar nu sunt furnizați:

1. Țesutul de control recomandat
2. Lame de microscop, încărcate pozitiv
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (nr. cat. 760-1029 / 05266238001)
4. *ultraView* DAB Detection Kit (nr. cat. 760-500 / 05269806001)
5. EZ Prep Concentrate (10X) (nr. cat. 950-102 / 05279771001)
6. Reaction Buffer Concentrate (10X) (nr. cat. 950-300 / 05353955001)
7. LCS (Predilute) (nr. cat. 650-010 / 05264839001)
8. ULTRA LCS (Predilute) (nr. cat. 650-210 / 05424534001)

9. Cell Conditioning Solution (CC1) (nr. cat. 950-124 / 05279801001)
10. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (nr. cat. 950-224 / 05424569001)
11. Hematoxylin II (nr. cat. 790-2208 / 05277965001)
12. Bluing Reagent (nr. cat. 760-2037 / 05266769001)
13. Echipament de laborator de uz general
14. Instrument BenchMark IHC/ISH

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

La primire, și atunci când nu este în uz, a se depozita la 2–8 °C. A nu se congela.

Pentru a asigura administrarea corectă a reactivului și stabilitatea anticorpului, înlocuiți capacul dozatorului după fiecare utilizare și introduceți imediat dozatorul în frigider, în poziție verticală.

Fiecare dozator de anticorpi are marcată data expirării. Dacă este stocat în mod adecvat, reactivul este stabil până la data trecută pe etichetă. Nu utilizați reactivul după data expirării.

PREGĂTIREA PROBELOR

Țesuturile FFPE prelucrate de obicei sunt adecvate utilizării cu acest anticorp primar la utilizarea cu kiturile de detecție VENTANA și instrumentele BenchMark IHC/ISH. Fixatorul de țesut recomandat este formalina neutră tamponată 10%.²⁹ Lamele trebuie colorate imediat, deoarece antigenicitatea secțiunilor de țesut tăiate se poate reduce în timp.

Se recomandă testarea controalelor pozitive și negative simultan cu probele necunoscute.

Tăiați secțiuni cu grosimea de aproximativ 4 µm și preluați-le pe lame din sticlă. Lamele trebuie să fie Superfrost Plus sau echivalente. Studiile indică faptul că secțiunile de țesut și linii celulare tăiate și uscate la aer păstrate la 2–8 °C sunt stabile timp de minimum 45 de zile. Fiecare laborator ar trebui să valideze stabilitatea lamei tăiate pentru propriile proceduri și condițiile mediului de depozitare.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Pentru diagnosticarea in vitro (IVD).
2. Doar pentru uz profesional.
3. A nu se depăși numărul de teste specificat.
4. Lamele încărcate pozitiv pot fi susceptibile la factori de mediu care duc la colorarea inadecvată. Cereți reprezentantului dvs. Roche mai multe informații privind modul de utilizare a acestor tipuri de lame.
5. Materialele de origine umană sau animală trebuie considerate materiale care prezintă pericol biologic și eliminate cu măsurile de precauție adecvate. În cazul expunerii, trebuie respectate instrucțiunile de sănătate comunicate de autoritățile responsabile.^{30,31}
6. Evitați contactul reactivului cu ochii și membranele mucoase. Dacă reactivii intră în contact cu zonele sensibile, spălați-le cu apă din abundență.
7. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor, deoarece aceasta poate duce la obținerea unor rezultate incorecte.
8. Când este utilizat conform instrucțiunilor, acest produs nu este clasificat drept substanță periculoasă. Conservantul din reactiv este azida de sodiu. Simptomele supraexpunerii la azidă de sodiu includ iritarea pielii și a ochilor, precum și iritarea membranelor mucoase și a căii respiratorii superioare. Concentrația de azidă de sodiu din acest produs este de 0.05% și nu îndeplinește criteriile pentru a fi considerată substanță periculoasă. Depunerile de NaN3 pot reacționa cu plumbul și cuprul din instalațiile sanitare, formând azide metalice puternic explozive. Pentru eliminare, clătiți cu apă din abundență pentru a preveni acumularea de azidă în instalațiile sanitare.³² La persoanele sensibile pot apărea reacții alergice sistemice.
9. Pentru mai multe informații privind utilizarea acestui dispozitiv, consultați ghidul de utilizare a instrumentului BenchMark IHC/ISH și instrucțiunile de utilizare a tuturor componentelor necesare de la navifyportal.roche.com.
10. Consultați autoritățile locale și/sau de stat cu privire la metoda de eliminare recomandată.
11. Etichetarea de securitate a produsului respectă în principal instrucțiunile GHS din UE. Fișa cu date de securitate este disponibilă utilizatorilor profesioniști la cerere.
12. Pentru a raporta suspiciunile privind incidentele grave referitoare la acest dispozitiv, contactați reprezentantul local Roche și autoritatea competentă a Statului Membru sau a Țării în care este stabilit utilizatorul.

PROCEDURA DE COLORARE

Anticorpii primari VENTANA au fost dezvoltati pentru a fi utilizați pe instrumentele BenchMark IHC/ISH împreună cu kiturile de detecție și accesoriile VENTANA. Consultați tabelele de mai jos pentru protocoalele de colorare recomandate.

Acest anticorp a fost optimizat pentru timpi de incubare specifici, dar utilizatorul trebuie să valideze rezultatele obținute cu acest reactiv.

Parametrii pentru procedurile automate pot fi afișați, tipăriți și editați conform procedurii din ghidul de utilizare a instrumentului. Consultați fișa adecvată de descriere a metodei aferentă *ultraView DAB Detection Kit* pentru mai multe detalii referitoare la procedurile de colorare din IHC.

Pentru mai multe detalii referitoare la utilizarea adecvată a acestui dispozitiv, consultați fișa de descriere a metodei pentru dozatorul în linie asociat cu P/N 790-7167.

NOTĂ: Procedurile de colorare sunt prezentate în Tab 1 (pentru pozitivitatea HER2 și evaluarea nivelului scăzut al HER2 în cazurile cu cancer mamar), Tab 2 (pentru evaluarea pozitivității HER2 doar în cazurile cu cancer mamar) și Tab 3 (pentru evaluarea pozitivității HER2 în cazurile de cancer gastric). Etapele protocolului de colorare recomandat, inclusiv condiționarea celulei și incubarea anticorpului, sunt aceiași pentru screeningul cancerului mamar cu toate tipurile de statut HER2; cu toate acestea, procedurile de colorare oferă diferite posibilități de modificare disponibile pentru utilizator. În timpul screeningului pacienților pentru o evaluare a nivelului potențial scăzut al HER2, trebuie utilizată procedura de colorare din Tab 1. Dacă intenția include raportarea statutului de nivel scăzut al HER2 (definit ca un scor IHC 1+ sau 2+ cu un statut confirmat pentru HER2 neamplificat), trebuie să se utilizeze procedura de colorare din Tab 1. Dacă intenția este doar raportarea statutului pozitiv pentru HER2 (definit ca un scor IHC 3+ sau 2+ cu un statut amplificat confirmat pentru HER2), pot fi utilizate procedurile din Tab 1 sau Tab 2. Pentru a asigura utilizarea cât mai cuprinzătoare a rezultatelor fie pentru statutul de nivel scăzut al HER2, fie pentru statutul pozitiv pentru HER2 în cazurile de cancer mamar, se recomandă insistent să utilizați procedura de colorare enumerată în Tab 1.

Procedura de colorare pentru toate evaluările HER2, inclusiv evaluarea potențială scăzută a HER2 în probe de sân

Protocolul și procedura de colorare prezentate în această secțiune și Tab 1 sunt adecvate pentru utilizarea în screeningul cazurilor cu cancer mamar cu toate tipurile de statut HER2 și trebuie să fie utilizate când se evaluează probele pacienților pentru tratamentul cazurilor cu nivel potențial scăzut al HER2. Abaterea de la protocolul de colorare recomandat poate produce probe inacceptabile colorate cu HER2 cu un scor HER2 modificat, în special în cazurile cu exprimare scăzută a HER2 (IHC 1+). Scăderea sau creșterea timpilor de condiționare a celulei, în special, este probabil să producă probe colorate cu HER2 cu scoruri HER2 modificate, ceea ce poate duce la decizii de tratament neadecvate pentru pacienți. Procedura de colorare enumerată în Tab 1 nu permite modificarea condiționării celulelor sau a timpului de incubare a anticorpilor pentru a ajuta la reducerea acestui risc, deoarece acesta este singurul protocol de colorare validat pentru utilizare în evaluarea probelor de la pacienți scăzute în HER2 potențiale.

Tab 1. Protocol de colorare pentru testul VENTANA HER2 (4B5) pentru toate evaluările HER2 în probe de sân, inclusiv evaluarea potențială scăzută a HER2 pe un instrument BenchMark IHC/ISH.

Tipul de procedură	Metodă		
	BenchMark GX	BenchMark XT	BenchMark ULTRA sau BenchMark ULTRA PLUS
Procedura de colorare	GX VENTANA HER2 4B5	XT VENTANA HER2 4B5	ULTRA VENTANA HER2 4B5
Anticorp (Primar)*	VENTANA HER2 4B5 Ab – 16 min. sau CONFIRM Neg Ctl Rbt Ig – 16 min.	VENTANA HER2 4B5 Ab – 16 min. sau CONFIRM Neg Ctl Rbt Ig – 16 min.	VENTANA HER2 4B5 Ab – 12 min. sau CONFIRM Neg Ctl Rbt Ig – 12 min.
Contracolorație	Hematoxylin II, 4 minute		
Post-contracolorare	Bluing, 4 minute		

* Aceasta este o condiție programată în prealabil și nu este o etapă selectabilă pentru utilizator.

Proceduri de colorare alternative aplicabile doar pentru evaluarea pozitivității HER2 potențiale a probelor de țesut mamar și gastric

Procedurile și protocoalele de colorare prezentate în Tab 2 și Tab 3 sunt destinate pentru utilizarea în evaluarea pozitivității HER2 (definită ca supraexprimarea proteinelor, scor IHC 3+ sau 2+ cu un statut confirmat de HER2 amplificată) și nu pentru utilizarea în evaluarea exprimării scăzute a HER2 (definită ca scor IHC 1+ sau 2+ (cu un statut confirmat de HER2 neamplificată). Timpii recomandați de condiționare a celulei și de incubare a anticorpilor, detaliați în Tab 2 și Tab 3 nu sunt blocați și pot fi modificați de utilizator. Posibilele motive pentru modificarea parametrilor includ variația în fixarea și prelucrarea țesutului (abaterea de la recomandările privind fixarea sau prelucrarea probelor), condiții generale privind instrumentele de laborator și condițiile de mediu, precum și preferința cititorului. Pentru mai multe informații privind variabilele de fixare, consultați „Immunohistochemistry Principles and Advances”.³³ Utilizatorii care nu respectă procedurile de colorare recomandate răspund de interpretarea și validarea rezultatelor pacientului.

Tab 2. Protocolul de colorare recomandat pentru testul VENTANA HER2 (4B5) cu *ultraView DAB Detection Kit* în probe de sân pe un instrument BenchMark IHC/ISH.

Tipul de procedură	Metodă		
	BenchMark GX	BenchMark XT	BenchMark ULTRA sau BenchMark ULTRA PLUS
Procedura de colorare	Procedura de colorare <i>ultraView DAB</i>	Procedura de colorare <i>ultraView DAB</i>	Procedura de colorare <i>ultraView DAB</i>
Deparafinare	Selectat(ă)	Selectat(ă)	Selectat(ă)
Cell Conditioning (Demascarea antigenului)	CC1, Ușoară	CC1, Ușoară	ULTRA CC1, Ușoară
Anticorp (primar)	16 minute, 37 °C	16 minute, 37 °C	12 minute, 36 °C
<i>ultraWash</i>	Selectat(ă)		
Contracolorație	Hematoxylin II, 4 minute		
Post-contracolorare	Bluing, 4 minute		

Tab 3. Protocolul de colorare recomandat pentru testul VENTANA HER2 (4B5) cu *ultraView DAB Detection Kit* în probe gastrice pe un instrument BenchMark IHC/ISH.

Tipul de procedură	Metodă		
	BenchMark GX	Benchmark XT	BenchMark ULTRA
Procedura de colorare	Procedura de colorare <i>ultraView DAB</i>	Procedura de colorare <i>ultraView DAB</i>	Procedura de colorare <i>ultraView DAB</i>
Deparafinare	Selectat(ă)	Selectat(ă)	Selectat(ă)
Cell Conditioning (Demascarea antigenului)	CC1, Ușoară	CC1, Ușoară	ULTRA CC1, Ușoară
Anticorp (primar)	16 minute, 37 °C	16 minute, 37 °C	12 minute, 36 °C
<i>ultraWash</i>	Selectat(ă)		
Contracolorație	Hematoxylin II, 4 minute		
Post-contracolorare	Bluing, 4 minute		

PROCEDURI DE CONTROL DE CALITATE

Controale de linie celulară

Ventana furnizează, ca produs separat, patru controale de linie celulară fixate în formalină, înglobate în parafină, secționate și montate pe o singură lamă încărcată. PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides (P/N 781-2991) pot fi utile pentru o validare preliminară a instrumentului sau a metodei de prelucrare utilizate pentru colorarea lamelor cu testul VENTANA HER2 (4B5). Aceste patru controale de linie celulară sunt caracterizate prin hibridizarea in situ pentru numărul copiilor genei, Tab 4. Când sunt prelucrate și colorate corespunzător, liniile celulare trebuie să se coloreze conform descrierii din fișa de descriere a metodei PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides. În cazul în care colorarea indicată nu este evidentă în nucleele corespunzătoare, în special pentru controalele 1+ și 2+, colorarea acestor țesuturi trebuie repetată.

Tab 4. Caracteristicile PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides.

Scor HER2 IHC	Linie celulară	Raport HER2/Chr17*
0	MDA-MB-231	1.11
1+	T47D	1.12
2+	MDA-MB-453	2.66
3+	BT-474	5.53

* Raportul HER2/Chr17 este o medie a trei loturi de PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides determinată cu ajutorul hibridizării fluorescente in situ (FISH).

CONTROL DE ȚESUT POZITIV

Un țesut de control pozitiv fixat și preparat în același mod ca probele de la pacienți trebuie testat pentru fiecare set de condiții de test și la fiecare procedură de colorare cu testul VENTANA HER2 (4B5) care este efectuată. Practica de laborator optimă este aceea de a include o secțiune de control pozitiv pe aceeași lamă cu țesutul de test. Acest lucru ajută la identificarea oricăror eșecuri prin aplicarea reactivului pe lamă. Țesutul cu colorare pozitivă slabă este cel mai bun pentru controlul de calitate. Țesutul de control poate conține elemente de colorare atât pozitive cât și negative și servește în calitate de control pozitiv dar și negativ. Țesutul de control trebuie să fie o probă obținută prin autopsie, biopsie sau intervenție chirurgicală recentă, preparată sau fixată cât mai repede posibil, în mod identic cu secțiunile de testare.

Acest țesut poate fi prezent în toate etapele de analiză, de la prepararea țesutului până la colorare. Utilizarea unei secțiuni de țesut fixat sau prelucrat diferit de probele de test oferă control pentru toți reactivii și etapele metodei, cu excepția fixării și a preparării țesutului. În mod ideal, trebuie ales un țesut cunoscut cu având o colorare slabă, dar pozitivă, pentru a asigura faptul că sistemul este sensibil la nivelurile minore de degradare a reactivului sau la problemele apărute în metodologia IHC. Cu toate acestea, în general, țesutul neoplazic care este pozitiv pentru HER2 este puternic pozitiv din cauza naturii patologiei (supraexpresie).

Controalele de țesut pozitiv cunoscut pot fi utilizate doar pentru monitorizarea performanțelor reactivilor și instrumentelor, nu ca mijloc auxiliar de determinare a diagnosticelor specifice ale probelor de testare. Dacă controalele de țesut pozitiv nu demonstrează colorarea pozitivă, rezultatele probei de testare trebuie considerate nevalide.

Un exemplu de control pozitiv pentru testul VENTANA HER2 (4B5) este un carcinom mamar invaziv cunoscut ca slab pozitiv pentru HER2 sau o probă de carcinom gastric slab pozitivă. Componentele țesutului de colorare pozitiv (colorație membranoasă a celulelor neoplazice) sunt utilizate pentru a confirma că anticorpul a fost aplicat și că instrumentul a funcționat adecvat.

Control de țesut negativ

Aceeași lamă utilizată pentru controlul de țesut pozitiv (carcinom mamar invaziv ductal sau lobular sau carcinom gastric) poate fi utilizat drept control de țesut negativ. Componentele necolorate (stroma înconjurătoare, celule limfoide și vase de sânge) trebuie să demonstreze absența colorării specifice și să ofere o indicație privind colorarea de fond specifică (fals pozitivă) cu anticorpul primar. Utilizați un țesut negativ cunoscut, fixat, prelucrat și înglobat în mod identic cu probele de la pacienți.

Control cu reactiv negativ

Pentru fiecare probă, trebuie să testați un control cu reactiv negativ, ca auxiliar pentru interpretarea rezultatelor. Un control cu reactiv negativ este utilizat în locul anticorpului

primar pentru a evalua colorarea nespecifică. Lama trebuie să fie colorată cu CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Perioada de incubare pentru controlul cu reactiv negativ trebuie să fie egală cu perioada de incubare a anticorpului primar.

Discrepanțe nejustificate

Discrepanțele nejustificate din controale trebuie comunicate imediat reprezentantului de asistență local. Dacă rezultatele controlului de calitate nu corespund specificațiilor, rezultatele pacientului nu sunt valide. Consultați secțiunea Depanare. Identificați și corectați problema, apoi repetați probele pacientului.

Verificarea testului

Înainte de utilizarea inițială a unui anticorp sau a unui sistem de colorare într-o procedură de diagnostic, specificitatea anticorpului trebuie verificată prin testarea acestuia pe o serie de țesuturi cu caracteristici de performanță imunohistochimică cunoscute, reprezentând țesuturi pozitive și negative cunoscute (consultați Procedurile de control de calitate menționate anterior în această secțiune a prospectului și recomandările privind controlul de calitate din partea College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,³⁴ sau CLSI Approved Guideline³⁵ sau ambele documente). Aceste proceduri de control al calității trebuie repetate pentru fiecare lot nou de anticorpi sau ori de câte ori există o modificare a parametrilor de analiză. Țesuturile de cancer mamar și gastric cu statut HER2 cunoscut sunt adecvate pentru verificarea testului.

INTERPRETAREA COLORĂRII/REZULTATE PRECONIZATE

Procedura de imunocolorare automată VENTANA determină precipitarea unui produs de reacție (DAB) de culoare maro la locurile antigenului, localizate de testul VENTANA HER2 (4B5). Un patolog cu experiență în domeniul procedurilor imunohistochimice trebuie să evalueze controalele și să califice produsul colorat înainte de interpretarea rezultatelor.

Controale pozitive

Controlul cu țesut pozitiv colorat trebuie examinat mai întâi pentru a confirma că toți reactivii funcționează corect. Prezența unui produs de reacție colorat adecvat în membrana celulelor țintă indică o reactivitate pozitivă. În funcție de durata incubării și de potența hematoxilinei utilizate, contracolorarea va conduce la o colorare în albastru deschis până la albastru închis a nucleelor celulare. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.

Dacă controlul de țesut pozitiv nu demonstrează colorarea pozitivă, orice rezultat cu probele de test trebuie considerat nevalid.

Controale de țesut negative

Controlul de țesut negativ trebuie examinat după controlul de țesut pozitiv, pentru a verifica marcarea specifică a antigenului țintă de către anticorpul primar. Absența colorării specifice a controlului de țesut negativ confirmă lipsa reactivității încrucișate a anticorpilor cu celulele sau componentele celulare. Dacă țesutul este contracolorat, poate exista colorare în jurul celulei, în exteriorul acesteia, adică în spațiile interstițiale. Dacă se produce colorarea specifică în controlul de țesut negativ, rezultatele cu probele pacientului trebuie considerate nevalide.

Controale cu reactiv negativ

Colorarea nespecifică, dacă este prezentă, va avea un aspect difuz. De asemenea, colorarea lejeră sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată în secțiunile de țesut care sunt fixate excesiv în formalină. Pentru interpretarea rezultatelor colorării trebuie utilizate celule intacte, deoarece celulele necrotice sau degenerate prezintă adesea o colorare nespecifică.

Țesutul de la pacient

Probele de la pacienți trebuie examinate ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorări de fond a controlului de reactiv negativ. Ca în cazul oricărui test de imunohistochimie, un rezultat negativ înseamnă că nu a fost detectat antigenul respectiv, nu că antigenul lipsește din celulele sau țesutul supuse testului. De asemenea, morfologia fiecărei probe de țesut trebuie examinată utilizând o secțiune colorată cu hematoxină și eozină la interpretarea oricărui rezultat imunohistochimic. Rezultatele morfologice ale pacientului și datele clinice pertinente trebuie interpretate de un patolog calificat.

Un patolog cu experiență în domeniul procedurilor de imunohistochimie trebuie să evalueze controalele pozitive și negative și să califice produsul colorat înainte de interpretarea rezultatelor.

Convenții de stabilire a scorului pentru interpretarea colorării cu VENTANA anti-HER2 (4B5) Antibody în carcinomul mamar

Următoarele tabele furnizează criteriile de colorare. Consultați Ghidul de interpretare VENTANA HER2 (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody Rx/Dx pentru cancer mamar și gastric (P/N 1021957RO) pentru o descriere mai detaliată, cu imagini ale colorării cu testul VENTANA HER2 (4B5).

Tab 5. Criteriile pentru intensitatea și modelul colorării membranei celulare cu testul VENTANA HER2 (4B5) în carcinomul mamar atunci când se utilizează procedura de colorare din Tab 1.

Model de colorare	Scorul HER2 (4B5) (raportul către medicul curant)	Utilizarea procedurii de colorare în Tab 1: Statut de raportare recomandat	Aplicație clinică
Nu se observă colorarea membranei sau Colorare slabă, parțială a membranei în 10% sau mai puțin dintre celulele canceroase	0	Negativ pentru HER2	Niciuna
Colorare slabă, parțială a membranei în mai mult de 10% dintre celulele canceroase	1+	Exprimare scăzută a HER2	ENHERTU® (trastuzumab deruxtecán)
Colorare completă slabă până la moderată a membranei, în mai mult de 10% dintre celulele canceroase	2+*	Test reflex: HER2 neamplificată	
	2+*	Test reflex: HER2 amplificată	
Colorare completă intensă a membranei, în mai mult de 10% dintre celulele canceroase	3+	Pozitiv pentru HER2/supraexprimare	HERCEPTIN (trastuzumab), PERJETA (pertuzumab), KADCYLA (trastuzumab emtansine)

* Se recomandă efectuarea testului reflex pentru evaluarea amplificării genei conform ghidului ASCO/CAP

Tab 6. Criteriile pentru intensitatea și modelul colorării membranei celulare cu testul VENTANA HER2 (4B5) Rx/Dx în carcinomul mamar atunci când se utilizează procedura de colorare din Tab 2.

Model de colorare	Scorul HER2 (4B5) (raportul către medicul curant)	Utilizarea procedurii de colorare în Tab 2: Statut de raportare recomandat	Aplicație clinică
Nu se observă colorarea membranei sau Colorare slabă, parțială a membranei în 10% sau mai puțin dintre celulele canceroase	0	Negativ pentru HER2	Niciuna

Model de colorare	Scorul HER2 (4B5) (raportul către medicul curant)	Utilizarea procedurii de colorare în Tab 2: Statut de raportare recomandat	Aplicație clinică
Colorare slabă, parțială a membranei în mai mult de 10% dintre celulele canceroase	1+	Negativ pentru HER2	HERCEPTIN (trastuzumab), PERJETA (pertuzumab), KADCYLA (trastuzumab emtansine)
Colorare completă slabă până la moderată a membranei, în mai mult de 10% dintre celulele canceroase	2+*	Test reflex: HER2 neamplificată	
	2+*	Test reflex: HER2 amplificată	
Colorare completă intensă a membranei, în mai mult de 10% dintre celulele canceroase	3+	Pozitiv pentru HER2/supraexprimare	

* Se recomandă efectuarea testului reflex pentru evaluarea amplificării genei conform ghidului ASCO/CAP

Convenții de stabilire a scorului pentru interpretarea colorării cu VENTANA anti-HER2 (4B5) Antibody în carcinomul gastric

Carcinoamele gastrice care sunt considerate pozitive pentru supraexprimarea proteinelor HER2 trebuie să îndeplinească criteriile de prag pentru intensitatea și modelul colorării membranei (2+ sau mai mult pe o scară de la 0 la 3+) și pentru procentajul de celule tumorale pozitive. Colorarea trebuie să se localizeze pe membrana celulară, dar nu trebuie să fie complet circumferențială, deoarece colorarea bazo-laterală este observată în mod regulat și ar trebui luată în considerare pentru scor. Colorarea citoplasmatică și/sau a nucleului poate fi încă prezentă, însă această colorare nu este inclusă în determinarea statutului pozitiv. În carcinomul gastric, procentajul de celule tumorale pozitive depinde de faptul dacă proba este obținută prin biopsie (≥ 5 celule coezive) sau este probă de rezecție (≥ 10%).

În elaborarea recomandărilor pentru stabilirea scorurilor pentru imunohistochimia HER2 în cancerul gastric, rețineți că, deși colorația membranoasă puternică este o dovadă a supraexprimării proteinei HER2 în celulele neoplazice, aceasta nu trebuie neapărat să fie complet circumferențială.³⁶

S-a raportat colorația citoplasmatică difuză cu sau fără colorare nucleară în cancerul gastric.³⁷ Doar colorația membranoasă trebuie utilizată pentru a determina exprimarea proteinei HER2 în cancerul gastric.

Colorarea imunohistochimică cu clona 4B5 poate produce colorarea citoplasmatică și nucleară a mucoasei gastrice normale și, mai puțin frecvent, a celulelor neoplazice, în carcinomul gastric și carcinomul cu joncțiune gastroesofagiană. Natura acestei colorări citoplasmatică și nucleare este în prezent necunoscută. Acest model de colorare nu trebuie confundat cu colorația membranoasă discretă, deoarece aceasta indică pozitivitatea HER2 în celulele neoplazice.

Consultați Ghidul de interpretare pentru VENTANA HER2 (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody Rx/Dx Ghidul de interpretare pentru cancer mamar și gastric (P/N 1021957RO) pentru o descriere mai detaliată, cu microfotografii ale colorării cu testul VENTANA HER2 (4B5).

Tab 7. Criteriile pentru intensitatea și modelul colorării membranei celulare cu testul VENTANA HER2 (4B5) în carcinomul gastric atunci când se utilizează procedura de colorare din Tab 3.

Model de colorare – probă de rezecție	Model de colorare – probă de biopsie	Scor (raporată medicului curant)	Evaluarea colorației HER2	Aplicație clinică
Nicio reactivitate sau reactivitate membranoasă în < 10% dintre celulele tumorale	Nicio reactivitate sau reactivitate membranoasă în orice celulă tumorală	0	Negativ pentru HER2	Niciuna
Reactivitate membranoasă slabă/slab perceptibilă în ≥ 10% dintre celulele tumorale; celulele sunt reactive doar la nivelul unei părți a membranei lor	Grup de celule tumorale* cu reactivitate membranoasă slabă/slab perceptibilă, indiferent de procentajul de celule tumorale colorate	1+	Negativ pentru HER2	
Reactivitate membranoasă bazolaterală sau laterală completă, slabă până la moderată, în ≥ 10% dintre celulele tumorale	Grup de celule tumorale* cu reactivitate membranoasă bazolaterală sau laterală completă, slabă până la moderată, indiferent de procentajul de celule tumorale colorate	2+** Test reflex: HER2 neamplificată	Negativ pentru HER2	
		2+** Test reflex: HER2 amplificată	Pozitiv pentru HER2/supraexp rimare	HERCEPTIN (trastuzumab)
Reactivitate membranoasă bazolaterală sau laterală completă puternică în ≥ 10% dintre celulele tumorale	Grup de celule tumorale* cu reactivitate membranoasă bazolaterală sau laterală completă puternică, indiferent de procentajul de celule tumorale colorate	3+	Pozitiv pentru HER2/supraexp rimare	

* ≥ 5 celule coezive

** Recomandați un test reflex ISH

LIMITĂRI

Limitări generale

- Imunohistochimia este un proces de diagnostic cu pași multipli care presupune formarea specializată în selectarea reactivilor și secțiunilor de țesut adecvate, fixarea, prelucrarea, pregătirea lamei de imunohistochimie și interpretarea rezultatelor colorării.
- Colorarea țesuturilor depinde de manipularea și prelucrarea țesutului înainte de colorare. Fixarea inadecvată, congelarea, decongelarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea sau contaminarea cu alte țesuturi sau fluide poate produce artefacte, fixarea anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele contradictorii pot fi o consecință a variațiilor din metodele de fixare și înglobare sau a neregularităților inerente din cadrul țesutului.
- Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
- Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau absenței acesteia trebuie evaluate în contextul istoricului clinic, al morfologiei și al altor criterii histopatologice. Interpretarea clinică a oricărui rezultat sau a absenței acestuia trebuie să fie completată de studii morfologice și controale adecvate, precum și de alte teste de diagnostic. Ține de responsabilitatea unui patolog calificat să cunoască anticorpii, reactivii și metodele utilizate pentru a interpreta preparatul colorat. Colorarea trebuie efectuată într-un laborator certificat, autorizat, sub supravegherea unui patolog care este responsabil de analiza lamelor colorate și de asigurarea caracterului adecvat al controalelor pozitive și negative.
- Anticorpii și reactivii VENTANA sunt furnizați la diluția optimă pentru utilizare, atunci când se respectă instrucțiunile puse la dispoziție. Orice abatere de la procedurile de testare recomandate poate invalida rezultatele așteptate. Trebuie implementate și documentate controalele adecvate. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea privind interpretarea rezultatelor pacientului.
- Acest produs nu este destinat utilizării în citometria în flux, deoarece nu s-au stabilit caracteristicile de performanță.
- Reactivii pot demonstra reacții neașteptate în țesuturi netestate anterior. Posibilitatea unor reacții neprevăzute, chiar și în grupurile de țesuturi testate, nu poate fi complet eliminată, din cauza variabilității biologice a exprimării antigenilor în neoplasme sau alte țesuturi patologice.³⁸ Adresați-vă reprezentantului de asistență local, furnizându-i reacțiile neprevăzute documentate.

- Țesuturile de la persoane infectate cu virusul hepatitei B și care conțin antigenul de suprafață al hepatitei B (HBsAg) pot prezenta colorare nespecifică cu peroxidază din hrean.³⁹
- Rezultatele fals pozitive pot fi observate din cauza legării neimunologice a proteinelor sau a produșilor de reacție din substrat. De asemenea, acestea pot fi determinate și de activitatea pseudoperoxidazei (eritrocite), de activitatea peroxidazei endogene (citocromul C) sau de biotina endogenă (exemplu: ficat, creier, sân, rinichi), în funcție de tipul de imunocolorație utilizat.⁴⁰
- Ca în cazul oricărui test de imunohistochimie, un rezultat negativ înseamnă că nu a fost detectat antigenul respectiv, nu că antigenul a lipsit din celulele sau țesutul supuse testului.

LIMITĂRI SPECIFICE

- Acest anticorp a fost optimizat după cum este indicat în Tab 1 și Tab 2 pentru instrumentele BenchMark și chimii de detecție. Abaterile de la protocoalele de colorare recomandate în Tab 1 și Tab 2 poate conduce la obținerea unor probe inacceptabile de Negative Reagent Control (NRC) și a unor probe colorate cu testul VENTANA HER2 (4B5) cu un scor HER2 modificat. Timpul crescut de incubare a anticorpilor este probabil să producă o colorare inacceptabilă în NRC, ceea ce ar împiedica evaluarea probei din testul VENTANA HER2 (4B5). Scăderea sau creșterea timpilor de condiționare a celulei ar putea obține probe colorate cu VENTANA HER2 (4B5) Assay care prezintă scoruri HER2 modificate, ceea ce poate conduce la decizii de tratament neadecvate pentru pacienți. Pentru mai multe informații privind variabilele de fixare, consultați „Immunohistochemistry Principles and Advances”.³³
- Anticorpii, împreună cu kiturile de detecție și accesoriile VENTANA, detectează antigenul care supraviețuiește fixării obișnuite în formalină, prelucrării și secționării țesutului. Utilizatorii care nu respectă procedurile de testare recomandate răspund de interpretarea și validarea rezultatelor pacientului.
- Lamele trebuie colorate imediat, deoarece antigenicitatea secțiunilor de țesut tăiate se poate reduce în timp și poate fi compromisă din cauza factorilor de mediu, în cazul depozitării extinse. Lamele uscate la aer trebuie deshidratate și păstrate la 2–8 °C. Studiile susțin o perioadă minimă de 45 de zile de stabilitate a antigenului pe lamele necolorate. Dacă se dorește păstrarea timp de mai mult de 45 de zile, laboratoarele trebuie să valideze data de expirare în propriul mediu.
- Măduva osoasă nu a fost testată pentru specificitate. Utilizatorul trebuie să determine colorarea adecvată a țesuturilor de mai sus, înainte de interpretarea informațiilor privind colorarea.

5. Colorarea imunohistochimică cu clona 4B5 poate produce colorarea citoplasmatică și nucleară a mucoasei gastrice normale și, mai puțin frecvent, a celulelor neoplazice, în carcinomul gastric și carcinomul cu joncțiune gastroesofagiană. Natura acestei colorări citoplasmatică și nucleare este în prezent necunoscută. Acest model de colorare nu trebuie confundat cu colorația membranoasă discretă, care indică pozitivitatea HER2 în celulele neoplazice.
6. Este posibil să nu fie înregistrate toate testele pe fiecare instrument. Pentru mai multe informații, contactați reprezentantul dvs. local Roche.
7. S-au raportat modificări ale statutului HER2 apărute în evoluția metastatică sau după chimioterapia neoadjuvantă. Pe baza acestor observații, ar putea fi justificată obținerea unei probe proaspete pentru stabilirea statutului HER2 la momentul tratamentului, în loc ca acesta să fie bazat pe statutul HER2 din antecedente.⁴¹

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

Au fost desfășurate teste de colorare pentru sensibilitate, specificitate și precizie, rezultatele fiind menționate mai jos.

PERFORMANȚĂ ANALITICĂ

Sensibilitate și specificitate

Sensibilitatea/specificitatea testului VENTANA HER2 (4B5) a fost determinată printr-un studiu care nu a indicat nicio colorare specifică a membranei pentru majoritatea țesuturilor normale. Rezultatele colorării sunt prezentate în Tab 8. Sensibilitatea și specificitatea testului VENTANA HER2 (4B5) au fost determinate, de asemenea, printr-un studiu care nu a indicat nicio colorare specifică a membranei în majoritatea țesuturilor neoplazice. Rezultatele colorării sunt prezentate în Tab 9. Colorarea pentru sensibilitate și specificitate a fost efectuată utilizând protocolul iVIEW DAB Detection Kit pe un instrument BenchMark XT sau protocolul *ultraView* Universal DAB Detection Kit pe un instrument BenchMark ULTRA.

Colorarea pozitivă în epiteliul amigdalian, epiteliul esofagian, prostată, vezică urinară, nervul periferic, paratiroidă, cancer mamar, adenocarcinom de stomac, colon și cancer ovarian este în concordanță cu literatura publicată cu privire la exprimarea HER2.

Tab 8. Sensibilitatea/specificitatea testului VENTANA HER2 (4B5) a fost stabilită prin testarea țesuturilor normale FFPE.

Țesut	Nr. cazuri pozitive/total cazuri	Țesut	Nr. cazuri pozitive/total cazuri
Creierul mare	0/6	Intestinul subțire	0/6
Creierul mic	0/6	Intestinul gros	0/46
Glanda suprarenală	0/6	Ficat	0/6
Ovar	0/6	Glanda salivară	0/3
Pancreas	0/6	Limbă	0/3
Ganglion limfatic	0/12	Rinichi	0/6
Glanda pituitară	0/5	Prostată	1/6
Testicul	0/6	Vezică ^b	3/3
Tiroidă	0/6	Rect	0/6
Sân	0/14	Glanda paratiroidă ^c	4/6
Splină	0/6	Endometru	0/3
Amigdală ^a	3/6	Uter	0/3
Timus	0/5	Col uterin	0/5
Măduvă osoasă	0/3	Endocervix	0/1
Plămân	0/6	Mușchi scheletic	0/6
Cord	0/5	Piele	0/6
Pericard	0/3	Nerv	2/6
Esofag	1/6	Mezoteliu	0/3

Țesut	Nr. cazuri pozitive/total cazuri	Țesut	Nr. cazuri pozitive/total cazuri
Stomac	0/11	N/A	N/A

^a Colorarea focală a celulelor epiteliale superficiale

^b Colorația membranoasă a celulelor umbrelă superficiale

^c Colorarea focală a membranei

Tab 9. Sensibilitatea/specificitatea testului VENTANA HER2 (4B5) a fost stabilită prin testarea unei varietăți de țesuturi neoplazice FFPE.

Patologie	Nr. cazuri pozitive/total cazuri
Glioblastom (Creierul mare)	0/2
Meningiom (Creierul mare)	0/1
Oligodendrogliom (Creierul mare)	0/1
Adenocarcinom seros (Ovar)	0/2
Carcinom, NOS (nespecificat altfel) (Ovar)	1/2
Neoplasm neuroendocrin (Pancreas)	0/1
Adenocarcinom (Pancreas)	0/1
Carcinom, NOS (Pancreas)	0/3
Seminom (Testicul)	0/1
Carcinom embrionar (Testicul)	0/1
Carcinom medular (Tiroidă)	0/1
Carcinom papilar (Tiroidă)	0/1
Carcinom, NOS (Tiroidă)	0/3
Carcinom ductal microinvaziv (Sân)	2/2
Carcinom ductal invaziv (Sân)	44/98
Carcinom, NOS (Sân)	1/4
Carcinom cu celule mici (Plămân)	0/1
Carcinom cu celule scuamoase (Plămân)	0/1
Carcinom, NOS (Plămân)	0/2
Adenocarcinom (Plămân)	0/1
Carcinom cu celule scuamoase (Esofag)	0/1
Adenocarcinom (Esofag)	0/1
Adenocarcinom mucinos (Stomac)	0/4
Adenocarcinom (Stomac)	8/88
Carcinom cu celule inel-cu-pecete (Stomac)	0/4
Carcinom, NOS (Stomac)	0/3
Adenocarcinom (Intestin subțire)	0/1
Tumora stromală gastrointestinală (Intestin subțire)	0/1
Adenocarcinom (Intestin gros)	0/32
Tumora stromală gastrointestinală (Intestin gros)	0/1
Carcinom, NOS (Intestin gros)	1/3
Adenocarcinom (Rect)	1/5
Tumora stromală gastrointestinală (Rect)	0/1

Patologie	Nr. cazuri pozitive/total cazuri
Melanom (Rect)	0/1
Carcinom hepatocelular (Ficat)	0/3
Hepatoblastom (Ficat)	0/1
Carcinom, NOS (Ficat)	0/3
Carcinom cu celule clare (Rinichi)	0/1
Carcinom, NOS (Rinichi)	0/5
Adenocarcinom (Prostată)	0/2
Carcinom, NOS (Prostată)	0/3
Leiomiom	0/3
Adenocarcinom (Uter)	0/1
Carcinom cu celule clare (Uter)	0/1
Carcinom cu celule scuamoase (Col uterin)	0/2
Rabdomiosarcom embrionar (Mușchi striati)	0/1
Carcinom bazocelular (Piele)	0/1
Carcinom cu celule scuamoase (Piele)	1/1
Neurofibrom (Lombar)	0/1
Neuroblastom (Retropertoneu)	0/1
Mezoteliom (Peritoneu)	0/1
Rabdomiosarcom pleomorfic (Peritoneu)	0/1
Limfom, NOS	0/3
Limfom cu celule B, NOS (Splină)	0/1
Limfom cu celule B, NOS (Ganglion limfatic)	0/2
Limfom Hodgkin (Ganglion limfatic)	0/1
Carcinom urotelial (Vezică)	1/1
Leiomiomasarcom (Vezică)	0/1
Osteosarcom (Os)	0/1
Leiomiomasarcom (Mușchi neted)	0/1
Adenocarcinom al rectului (Metastatic)	0/1
Adenocarcinom al intestinului gros (Metastatic)	0/7
Adenocarcinom mucinos al intestinului gros (Metastatic)	0/1
Melanom	0/2
Neoplasm neuroendocrin, NOS	0/2
Sarcom, NOS	0/2
Carcinom nediferențiat, NOS	0/1

Performanța analitică în cancerul mamar cu nivel scăzut al HER2

Repetabilitate și precizie intermediară pentru nivelul scăzut al HER2 pe BenchMark ULTRA

În studiul privind repetabilitatea și precizia intermediară au fost incluse douăzeci și patru de cazuri de carcinom mamar care acoperă tot intervalul de colorare HER2 IHC. Configurația studiului a verificat precizia de colorare pe țesuturile de carcinom mamar colorate cu testul VENTANA HER2 (4B5).

Trei loturi de VENTANA HER2 (4B5) Assay (între loturi de anticorpi)

Trei loturi de *ultraView* DAB IHC Detection Kit (între loturi de kituri de detecție)

Pe durata a trei zile (între zile)

Trei instrumente BenchMark ULTRA (între instrumente)

În toate condițiile de precizie intermediară (în cadrul aceleiași testări)

Fiecărei probe i s-a atribuit un mod, pe baza probelor agregate pentru fiecare condiție de testare, respectiv între loturi de anticorpi, între loturile de kituri de detecție, între instrumente și între zile. Pentru condiția din cadrul aceleiași testări, fiecare probă a fost comparată în limitele probelor sale duplicate per testare. Toate lamele au fost studiate în orb și randomizate, iar apoi evaluate utilizând criteriile pentru intensitatea și modelul de colorare a membranei celulare cu testul VENTANA HER2 (4B5) (Tab 5). Rezultatele sunt rezumate în Tab 10.

Tab 10. Repetabilitate și precizie intermediară pentru testul VENTANA HER2 (4B5) pe țesutul de cancer mamar cu scor scăzut al HER2

Repetabilitate/ Precizie	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Între loturile de anticorpi	PPA	96/96	100.0	(96.2, 100.0)
	NPA	48/48	100.0	(92.6, 100.0)
	OPA	144/144	100.0	(97.4, 100.0)
Între kiturile de detecție	PPA	93/96	96.9	(92.2, 100.0)
	NPA	48/48	100.0	(92.6, 100.0)
	OPA	141/144	97.9	(94.4, 100.0)
Între instrumente (BenchMark ULTRA)	PPA	95/96	99.0	(96.7, 100.0)
	NPA	48/48	100.0	(92.6, 100.0)
	OPA	143/144	99.3	(97.9, 100.0)
Între zile	PPA	94/96	97.9	(93.3, 100.0)
	NPA	48/48	100.0	(92.6, 100.0)
	OPA	142/144	98.6	(95.8, 100.0)
În cadrul aceleiași testări	PPA	142/144	98.6	(96.5, 100.0)
	NPA	72/72	100.0	(94.9, 100.0)
	OPA	214/216	99.1	(97.7, 100.0)

Notă: Acord procentual pozitiv (PPA), acord procentual negativ (NPA), acord procentual general (OPA).

Notă: Intervalul de încredere bilateral de 95% (CI) a fost calculat cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 probe de bucle de repartiție. Intervalele de încredere pentru 100% PPA, NPA și OPA au fost calculate cu metoda punctajului Wilson.

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru tratamentul cazurilor cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic, iar scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru tratamentul ținut în cazurile cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic.

Studiu pentru compararea instrumentului BenchMark ULTRA cu Benchmark XT și Benchmark GX pentru nivelul scăzut al HER2

Zece cazuri de carcinom mamar care acoperă tot intervalul de colorare HER2 IHC au fost incluse în studiul privind precizia intermediară. Configurația studiului a verificat precizia de colorare pe țesuturile de carcinom mamar colorate cu testul VENTANA HER2 (4B5), pe mai multe instrumente și mai multe platforme.

Fiecărei probe i s-a atribuit un mod, pe baza probelor agregate pentru fiecare condiție de testare. Fiecare probă a fost comparată în limitele probelor sale duplicate per testare. Toate lamele au fost studiate în orb și randomizate, iar apoi evaluate utilizând criteriile pentru intensitatea și modelul de colorare a membranei celulare cu testul VENTANA HER2 (4B5) (Tab 5). Rezultatele sunt rezumate în Tab 11.

Tab 11. Repetabilitate și precizie intermediară pentru testul VENTANA HER2 (4B5) pe țesutul de cancer mamar cu scor scăzut al HER2

Repetabilitate/ Precizie	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Între platforme (ULTRA/GX/XT)	PPA	90/90	100.0	(95.9, 100.0)
	NPA	90/90	100.0	(95.9, 100.0)
	OPA	180/180	100.0	(97.9, 100.0)
Între instrumente (BenchMark ULTRA)	PPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	NPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	OPA	60/60	100.0	(94.0, 100.0)
Între instrumente (BenchMark GX)	PPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	NPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	OPA	60/60	100.0	(94.0, 100.0)
Între instrumente (BenchMark XT)	PPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	NPA	30/30	100.0	(88.6, 100.0)
	OPA	60/60	100.0	(94.0, 100.0)

Notă: Acord procentual pozitiv (PPA), acord procentual negativ (NPA), acord procentual general (OPA).

Notă: Intervalul de încredere bilateral de 95% (CI) a fost calculat cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 probe de bucle de repartiție. Intervalele de încredere pentru 100% PPA, NPA și OPA au fost calculate cu metoda punctajului Wilson.

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru tratamentul cazurilor cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic, iar scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru tratamentul ținut în cazurile cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic.

Precizia cititorului pentru nivelul scăzut al HER2 pe BenchMark ULTRA

Precizia între cititori și precizia în cazul aceluiași cititor au fost evaluate prin evaluarea concordanței statutului de nivel scăzut al HER2 între trei cititori și în cazul a trei cititori individuali. Studiul a inclus 100 de cazuri de cancer mamar care au acoperit intervalul de colorare HER2 IHC. Probele au fost studiate în orb și randomizate înainte de evaluarea pentru statutul de nivel scăzut al HER2 în funcție de modelul de colorare a membranei celulare cu testul VENTANA HER2 (4B5) (Tab 5). Cititorii au stabilit scoruri pentru toate probele de două ori, cu minimum două săptămâni între citiri. Acordul privind precizia între cititori și acordul privind precizia în cazul aceluiași cititor sunt prezentate în Tab 12.

Tab 12. Precizia cititorului și precizia între cititori pentru testul VENTANA HER2 (4B5) în cazurile cu scor scăzut al HER2

Precizie	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
În cazul aceluiași cititor	APA	312/333	93.7	(90.9, 96.4)
	ANA	246/267	92.1	(88.0, 95.6)
	OPA	279/300	93.0	(90.0, 96.0)
Între cititori	APA	300/332	90.4	(85.8, 94.3)
	ANA	236/268	88.1	(82.1, 93.0)
	OPA	268/300	89.3	(84.7, 94.0)

Notă: Acord procentual pozitiv mediu (APA), Acord procentual negativ mediu (ANA), Acord procentual general (OPA).

Precizie	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI

Notă: Intervalul de încredere bilateral de 95% (CI) a fost calculat cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 probe de bucle de repartiție.

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru tratamentul cazurilor cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic, iar scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru tratamentul ținut în cazurile cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic.

Studiu de reproductibilitate între laboratoare pentru nivelul scăzut al HER2 pe BenchMark ULTRA

S-a efectuat un studiu de reproductibilitate între laboratoare pentru testul VENTANA HER2 (4B5) pentru a demonstra reproductibilitatea testului pentru determinarea statutului de nivel scăzut al HER2 în cazurile cu cancer mamar. Studiul a inclus 28 de probe de țesut de carcinom mamar FFPE anonimizate, arhivate, testate pe trei instrumente BenchMark ULTRA în fiecare dintre cele cinci zile neconsecutive timp de 20 de zile la trei laboratoare externe. Probele au reprezentat intervalul de colorare a testului VENTANA HER2 (4B5).

Fiecare set de 5 lame colorate pentru fiecare probă în fiecare zi de colorare a fost randomizat și evaluat de un număr total de 6 cititori (2 cititori/centru) pentru un statut de nivel scăzut al HER2. Rezultatele privind statutul de nivel scăzut al HER2 pentru toți cititorii, centrele și zilele pentru probe au fost combinate și analizate comparativ cu modulurile cititorului pentru aceleași probe, în vederea stabilirii reproductibilității totale a statutului de nivel scăzut al HER2. Rezumatul ratelor de acord pentru toate observațiile evaluabile, folosind modulurile de cititor la nivel de probă pentru statutul de nivel scăzut al HER2 ca referință, poate fi găsit în Tab 13.

Tab 13. Reproducibilitatea între laboratoare pentru ratele de acord general pentru testul VENTANA HER2 (4B5) cu scor scăzut pentru HER2

Reproductibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Generală	PPA	407/416	97.8	(96.2, 99.3)
	NPA	416/418	99.5	(98.8, 100.0)
	OPA	823/834	98.7	(97.7, 99.4)
În cadrul aceluiași centru	PPA	407/416	97.8	(96.2, 99.3)
	NPA	416/418	99.5	(98.8, 100.0)
	OPA	823/834	98.7	(97.7, 99.4)
În cazul aceluiași cititor	PPA	407/416	97.8	(96.2, 99.3)
	NPA	416/418	99.5	(98.8, 100.0)
	OPA	823/834	98.7	(97.7, 99.4)

Notă: Acord procentual pozitiv (PPA), acord procentual negativ (NPA), acord procentual general (OPA).

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări.

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru tratamentul cazurilor cu nivel scăzut al HER2 conform designului studiului clinic, iar scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru tratamentul ținut în cazurile cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic.

În plus, comparațiile pe perechi au fost efectuate între centre, între cititori și între zile pentru statutul scăzut al HER2. Puteți găsi un rezumat al rezultatelor în Tab 14. Datele indică reproductibilitatea testului pe o perioadă de 5 zile, la 3 centre și 6 cititori.

Tab 14. Reproducibilitatea între laboratoare pentru ratele de acord pe perechi pentru testul VENTANA HER2 (4B5) cu scor scăzut pentru HER2

Reproducibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Între centre	APA	7884/8102	97.3	(95.4, 98.8)
	ANA	8240/8458	97.4	(95.7, 98.8)
	OPA	8062/8280	97.4	(95.5, 98.8)
Între cititori	APA	398/409	97.3	(95.4, 98.8)
	ANA	414/425	97.4	(95.6, 98.8)
	OPA	406/417	97.4	(95.5, 98.8)
Între zile	APA	1580/1620	97.5	(95.9, 98.9)
	ANA	1652/1692	97.6	(96.2, 98.9)
	OPA	1616/1656	97.6	(96.1, 98.9)

Notă: Acord procentual pozitiv mediu (APA), Acord procentual negativ mediu (ANA), Acord procentual general (OPA)

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru tratamentul cazurilor cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic, iar scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru tratamentul țintit în cazurile cu nivel scăzut al HER2, conform designului studiului clinic.

Performanța analitică în cazurile de cancer mamar cu un nivel scăzut al HER2

Concordanța între instrumentele BenchMark ULTRA și BenchMark ULTRA PLUS pentru un nivel scăzut al HER2

Trei laboratoare au participat la un studiu de concordanță pentru a evalua echivalența performanței între instrumentul BenchMark ULTRA și instrumentul BenchMark ULTRA PLUS. Pentru analiza statistică a nivelului scăzut de HER2, 160 (80 de cazuri pozitive și 80 de cazuri negative, inclusiv 16 cazuri la limită) dintre cazuri au fost preselecate pentru analiză anterior citirilor de către patologi. Lamele de țesut din toate cazurile au fost colorate cu un control de reactiv negativ și testul VENTANA HER2 (4B5) la un laborator Roche intern pe un instrument BenchMark ULTRA utilizând protocolul de colorare recomandat. Lamele de țesut necolorate din toate cazurile au fost randomizate și distribuite egal pentru colorarea pe un instrument BenchMark ULTRA PLUS utilizând protocolul de colorare VENTANA HER2 (4B5) recomandat. Necunoscând statutul cazului, un cititor per centru a citit lamele colorate cu BenchMark ULTRA PLUS de la centrul său și a stabilit statutul HER2 (4B5). Rezultatele au fost analizate de Roche. Rezultatele sunt prezentate în Tab 15.

Tab 15. Acordul cumulat al nivelului scăzut de HER2 pentru cazurile colorate cu testul VENTANA HER2 (4B5) pe instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark ULTRA PLUS.

BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA				
	Cititor Roche = pozitiv, cititor extern = pozitiv	Cititor Roche = pozitiv, cititor extern = negativ	Cititor Roche = negativ, cititor extern = pozitiv	Cititor Roche = negativ, cititor extern = negativ	Total
Pozitivă	272	13	25	11	321
Negativă	8	9	2	298	317
Total	280	22	27	309	638

BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA				
	Cititor Roche = pozitiv, cititor extern = pozitiv	Cititor Roche = pozitiv, cititor extern = negativ	Cititor Roche = negativ, cititor extern = pozitiv	Cititor Roche = negativ, cititor extern = negativ	Total
Procentaj pozitiv % (n/N)	97.1 (272/280)	59.1 (13/22)	92.6 (25/27)	3.6 (11/309)	N/A
	n/N		% (95% CI)		
PPA	285/302		94.4 (91.6, 96.8)		
NPA	300/336		89.3 (84.3, 94.4)		
OPA	585/638		91.7 (88.5, 94.6)		

Notă: PPA = acord procentual pozitiv; NPA = acord procentual negativ; OPA = acord procentual general.

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări stratificate după intervalul punctajului de calificare IHC.

Notă: Acordul cumulat a inclus toate cazurile și cititorii ULTRA PLUS.

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru studiul clinic care investighează cancerul mamar cu nivel scăzut al HER2. Scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru studiul clinic.

Studiu de reproducibilitate între laboratoare – BenchMark ULTRA PLUS pentru un nivel scăzut al HER2

S-a efectuat un studiu de reproducibilitate între laboratoare pentru testul VENTANA HER2 (4B5) pentru a demonstra reproducibilitatea testului pentru determinarea statutului de nivel scăzut al HER2 în cazurile cu cancer mamar.

Studiul a inclus 28 de probe de țesut de carcinom mamar FFPE anonimizate, arhivate, testate pe trei instrumente BenchMark ULTRA PLUS în fiecare dintre cele cinci zile neconsecutive timp de 20 de zile la trei laboratoare externe. Probele au reprezentat intervalul de colorare a testului VENTANA HER2 (4B5).

Fiecare set de 5 lame colorate pentru fiecare probă în fiecare zi de colorare a fost randomizat și evaluat de un număr total de 6 cititori (2 cititori/centru) pentru un statut de nivel scăzut al HER2. Rezultatele privind statutul de nivel scăzut al HER2 pentru toți cititorii, centrele și zilele pentru probe au fost combinate și analizate comparativ cu modurile cititorului pentru aceleași probe, în vederea stabilirii reproducibilității totale a statutului de nivel scăzut al HER2. Rezumatul ratelor de acord pentru toate observațiile evaluabile, folosind modurile de cititor la nivel de probă pentru statutul de nivel scăzut al HER2 ca referință, poate fi găsit în Tab 16.

Tab 16. Reproducibilitatea între laboratoare pentru ratele de acord general pentru testul VENTANA HER2 (4B5) în carcinomul mamar cu scor scăzut al HER2.

Reproducibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Analiza primară/generală	PPA	407/420	96.9	(93.6, 99.3)
	NPA	405/420	96.4	(92.2, 100.0)
	OPA	812/840	96.7	(94.0, 98.9)
Stratificat pe centre	PPA	407/420	96.9	(93.6, 99.3)
	NPA	405/420	96.4	(92.2, 100.0)
	OPA	812/840	96.7	(94.0, 98.9)
Stratificat pe cititor	PPA	412/425	96.9	(94.8, 98.7)
	NPA	405/415	97.6	(94.9, 100.0)
	OPA	817/840	97.3	(95.2, 98.9)

Reproductibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări stratificate după intervalul punctajului de calificare al cazurilor.

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru studiul clinic care investighează cancerul mamar cu nivel scăzut al HER2. Scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru studiul clinic.

În plus, comparațiile pe perechi ale stării HER2 (4B5) au fost efectuate între centre, între cititori și între zile. Conform celor rezumate în Tab 17, testul a fost reproductibil pe o perioadă de 5 zile, la 3 centre și 6 cititori.

Tab 17. Reproducibilitatea între laboratoare pentru ratele de acord pe perechi pentru testul VENTANA HER2 (4B5) în carcinomul mamar cu scor scăzut pentru HER2.

Reproductibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Între centre	APA	7982/8440	94.6	(90.3, 97.9)
	ANA	7902/8360	94.5	(90.6, 98.0)
	OPA	7942/8400	94.5	(90.5, 98.0)
Între cititori	APA	402/422	95.3	(91.7, 98.1)
	ANA	398/418	95.2	(91.8, 98.1)
	OPA	400/420	95.2	(91.9, 98.1)
Între zile	APA	1608/1688	95.3	(91.5, 98.2)
	ANA	1592/1672	95.2	(91.8, 98.2)
	OPA	1600/1680	95.2	(91.8, 98.2)

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări stratificate după intervalul punctajului de calificare al cazurilor

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile HER2 0 și 3+ au fost grupate împreună ca negative, deoarece au fost neeligibile pentru studiul clinic care investighează cancerul mamar cu nivel scăzut al HER2. Scorurile HER2 1+ și 2+ au fost grupate împreună ca pozitive, deoarece au fost eligibile sau potențial eligibile pentru studiul clinic.

Performanța analitică în cazurile de cancer mamar cu statut pozitiv pentru HER2

Concordanța între instrumentele BenchMark ULTRA PLUS și BenchMark ULTRA în ceea ce privește statutul pozitiv pentru HER2

Trei laboratoare au participat la un studiu de concordanță pentru a evalua echivalența performanței între instrumentul BenchMark ULTRA și instrumentul BenchMark ULTRA PLUS. Pentru analiza statutului pozitiv pentru HER2, scorul IHC HER2 de 2+ sau 3+ este definit drept pozitiv pentru HER2 și un scor de 0 sau 1+ este definit drept negativ pentru HER2. Pentru analiza statistică a statutului pozitiv pentru HER2, 160 (80 de cazuri pozitive și 80 de cazuri negative, inclusiv 16 cazuri la limită) dintre cazuri au fost preselecate pentru analiză anterior citirilor de către patologi. Lamele de țesut din toate cazurile au fost colorate cu un control de reactiv negativ și testul VENTANA HER2 (4B5) la un laborator Roche intern pe un instrument BenchMark ULTRA utilizând protocolul de colorare recomandat. Lamele de țesut necolorate din toate cazurile au fost randomizate și distribuite egal pentru colorarea pe un instrument BenchMark ULTRA PLUS utilizând protocolul de colorare VENTANA HER2 (4B5) recomandat. Necunoscând statutul cazului, un cititor per centru a citit lamele colorate cu BenchMark ULTRA PLUS de la centrul său și a stabilit statutul HER2 (4B5). Rezultatele au fost analizate de Roche. Rezultatele sunt prezentate în Tab 18.

Tab 18. Acordul cumulat al statutului pozitiv pentru HER2 al cazurilor colorate cu testul VENTANA HER2 (4B5) pe instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark ULTRA PLUS.

BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA				
	Cititor Roche = pozitiv, cititor extern = pozitiv	Cititor Roche = pozitiv, cititor extern = negativ	Cititor Roche = negativ, cititor extern = pozitiv	Cititor Roche = negativ, cititor extern = negativ	Total
Pozitivă	245	18	11	13	287
Negativă	6	13	5	327	351
Total	251	31	16	340	638
Procentaj pozitiv % (n/N)	97.6 (245/251)	58.1 (18/31)	68.8 (11/16)	3.8 (13/340)	N/A
	n/N		% (95% CI)		
PPA	(263/282)		93.3 (89.3, 96.6)		
NPA	(332/356)		93.3 (89.7, 96.5)		
OPA	(595/638)		93.3 (90.8, 95.6)		

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări stratificate după intervalul punctajului de calificare IHC (0, 1+, 2+, 3+).

Notă: Acordul cumulat a inclus toate cazurile și cititorii ULTRA PLUS.

Notă: PPA = acord procentual pozitiv; NPA = acord procentual negativ; OPA = acord procentual general.

Studiu de reproductibilitate între laboratoare - BenchMark ULTRA PLUS în ceea ce privește statutul pozitiv pentru HER2

S-a efectuat un studiu de reproductibilitate între laboratoare pentru testul VENTANA HER2 (4B5) pentru a demonstra reproductibilitatea testului pentru determinarea statutului pozitiv pentru HER2 în cazurile cu cancer mamar. Studiul a inclus 28 de probe de țesut de carcinom mamar FFPE anonimizate, arhivate, testate pe trei instrumente BenchMark ULTRA PLUS în fiecare dintre cele cinci zile neconsecutive timp de 20 de zile la trei laboratoare externe. Probele au reprezentat intervalul de colorare a testului VENTANA HER2 (4B5).

Fiecare set de 5 lame colorate pentru fiecare probă în fiecare zi de colorare a fost randomizat și evaluat de un număr total de 6 cititori (2 cititori/centru) în ceea ce privește statutul pozitiv pentru HER2. Rezultatele privind statutul pozitiv pentru HER2 al tuturor cititorilor, centrelor și zilelor pentru probe au fost combinate și analizate comparativ cu modurile cititorului pentru aceleași probe, în vederea stabilirii reproductibilității totale a statutului pozitiv pentru HER2. Rezumatul ratelor de acord pentru toate observațiile evaluabile, folosind modurile de cititor la nivel de probă în ceea ce privește statutul pozitiv pentru HER2 ca referință, poate fi găsit în Tab 19.

Tab 19. Reproducibilitatea între laboratoare pentru ratele de acord general pentru testul VENTANA HER2 (4B5) în carcinomul mamar cu scor pozitiv pentru HER2.

Reproductibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Analiza primară/generală	PPA	411/420	97.9	(95.7, 99.5)
	NPA	410/420	97.6	(94.3, 100.0)
	OPA	821/840	97.7	(96.0, 99.3)
Stratificat pe centre	PPA	411/420	97.9	(95.7, 99.5)
	NPA	410/420	97.6	(94.3, 100.0)
	OPA	821/840	97.7	(96.0, 99.3)

Reproductibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Stratificat pe cititor	PPA	413/420	98.3	(96.9, 99.5)
	NPA	412/420	98.1	(95.8, 100.0)
	OPA	825/840	98.2	(96.9, 99.4)

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări stratificate după intervalul punctajului de calificare al cazurilor

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile IHC HER2 0 și 1+ au fost grupate împreună ca negative și scorurile IHC HER2 2+ și 3+ au fost grupate împreună ca pozitive.

În plus, comparațiile pe perechi ale stării HER2 (4B5) au fost efectuate între centre, între cititori și între zile. Conform celor rezumate în Tab 20, testul a fost reproductibil pe o perioadă de 5 zile, la 3 centre și 6 cititori.

Tab 20. Reproducibilitatea între laboratoare pentru ratele de acord pe perechi pentru testul VENTANA HER2 (4B5) în carcinomul mamar cu colorare pozitivă HER2

Reproductibilitatea între laboratoare	Acord			
	Tip	n/N	%	95% CI
Între centre	APA	8074/8420	95.9	(92.8, 98.6)
	ANA	8034/8380	95.9	(92.5, 98.7)
	OPA	8054/8400	95.9	(92.7, 98.6)
Între cititori	APA	402/421	95.5	(92.0, 98.6)
	ANA	400/419	95.5	(91.6, 98.6)
	OPA	401/420	95.5	(91.9, 98.6)
Între zile	APA	1634/1684	97.0	(95.0, 98.9)
	ANA	1626/1676	97.0	(94.8, 98.9)
	OPA	1630/1680	97.0	(95.0, 98.9)

Notă: Intervalele de încredere bilaterale de 95% (CI) au fost calculate cu ajutorul metodei buclei funcției de repartiție cu 2000 de replicări stratificate după intervalul punctajului de calificare al cazurilor

Notă: În scopul analizei studiului, scorurile IHC HER2 0 și 1+ au fost grupate împreună ca negative și scorurile IHC HER2 2+ și 3+ au fost grupate împreună ca pozitive.

Caracteristicile de performanță pe instrumentul BenchMark ULTRA utilizând iVIEW DAB Detection Kit sau *ultraView* Universal DAB Detection Kit

Colorarea cu instrumentul BenchMark ULTRA între laboratoare și reproductibilitatea între zile: Trei laboratoare din instituții separate din Statele Unite au participat la studiul de reproductibilitate între laboratoare. Lamele tăiate pentru 48 de cazuri FFPE de carcinom mamar invaziv [12 din fiecare categorie de grupare pentru HER2 (0, 1+, 2+, 3+)] și 1 pereche de PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides pentru fiecare dintre cele 12 cicluri de colorare au fost distribuite în centrele de studiu pentru colorarea pe un instrument BenchMark ULTRA utilizând protocolul de colorare recomandat și *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Controalele au inclus PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides și o a doua lamă din fiecare caz colorată cu reactiv Ig negativ. Patologi care nu cunoșteau statutul cazurilor au evaluat lamele și au furnizat un scor clinic (0, 1+, 2+, 3+). Rezultatele au fost analizate cu Ventana. Utilizând nomenclatura standard pentru tabele 2x2, acordul procentual pozitiv mediu (APA) între centre a fost calculat ca $[2a/(2a+b+c)]$, iar acordul procentual negativ mediu (ANA) a fost calculat ca $[2d/(2d+b+c)]$. În toate centrele, APA între centre bazat pe evaluarea clinică (pozitiv, negativ) a fost de 90.0% (108/120), iar ANA a fost de 92.9% (156/168). Pentru comparațiile pe perechi ale centrelor, APA a fost calculat ca $a/(a+c)$, iar ANA a fost calculat ca $d/(b+d)$. Ratele APA între centre au fost de

93.0% (40/43), 87.2% (34/39) și 89.5% (34/38) pentru Centrul A comparativ cu Centrul B, Centrul A comparativ cu Centrul C și respectiv Centrul B comparativ cu Centrul C. Ratele ANA între centre au fost de 94.3% (50/53), 91.2% (52/57) și 93.1% (54/58) pentru Centrul A comparativ cu Centrul B, Centrul A comparativ cu Centrul C și respectiv Centrul B comparativ cu Centrul C.

Următoarele tabele sunt prezentări 3x3 ale rezultatelor pentru fiecare cititor pe baza scorului clinic unde au fost separate 2+ și 3+.

Tab 21. Analiza 3x3 a ratelor de acord între laboratoare pentru Centrul A comparativ cu Centrul B – clona 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Centrul A	Centrul B			
	3+	2+	0, 1+	Total
3+	12	2	0	14
2+	0	6	2	8
0, 1+	0	1	25	26
Total	12	9	27	48
Acord procentual general (OPA): n/N (%) (95% CI) 43/48 (89.6) (77.8–95.5)				

Tab 22. Analiza 3x3 a ratelor de acord între laboratoare pentru Centrul A comparativ cu Centrul C – clona 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Centrul A	Centrul C			
	3+	2+	0, 1+	Total
3+	12	1	1	14
2+	0	4	4	8
0, 1+	0	0	26	26
Total	12	5	31	48
Acord procentual general (OPA): n/N (%) (95% CI) 42/48 (87.5) (75.3–94.1)				

Tab 23. Rate de acord între laboratoare pentru Centrul B comparativ cu Centrul C, analiza 3x3-clona 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Centrul B	Centrul C			
	3+	2+	0, 1+	Total
3+	12	0	0	12
2+	0	5	4	9
0, 1+	0	0	27	27
Total	12	5	31	48
Acord procentual general (OPA): n/N (%) (95% CI) 44/48 (91.7) (80.4–96.7)				

Reproductibilitatea între zile a colorării cu instrumentul BenchMark ULTRA

Porțiunea studiului privind reproductibilitatea între zile (IDR, inter-day reproductibility) a inclus 12 cazuri cu o distribuție preconizată de aproximativ trei (3) cazuri pentru fiecare scor clinic (0, 1+, 2+, 3+). În total, cele cinci testări pe instrumentul BenchMark ULTRA la singura instituție (Centrul C) care a efectuat porțiunea IDR a studiului s-au desfășurat pe o perioadă de minimum 20 de zile, astfel încât nu au existat două zile de colorare consecutive. Ratele APA și ANA pentru IDR pe baza evaluării clinice a colorării clonei 4B5 la centrul C în toate zilele au fost ambele 100%. Ratele de acord procentual general (OPA) pentru comparațiile între zile bazate pe scorurile clinice au fost 100% pentru fiecare dintre comparațiile între zile și pentru toate zilele combinate.

Studiu pentru compararea instrumentului BenchMark ULTRA cu instrumentul BenchMark XT

La studiul pentru compararea platformelor au participat două laboratoare de colorare și trei centre de citire din Statele Unite. Lamele pentru 280 de cazuri FFPE de carcinom mamar invaziv [aproximativ 70 de cazuri din fiecare categorie de grupare pentru HER2 (0, 1+, 2+, 3+)] au fost distribuite aleatoriu în două centre de colorare (140 de cazuri în fiecare centru) pentru colorarea pe un instrument BenchMark XT și un instrument BenchMark ULTRA utilizând protocoalele de colorare respective recomandate și *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Controalele au inclus PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides și o a doua lamă din fiecare caz colorată cu reactiv Ig negativ. Cazurile colorate din Centrul 1 și Centrul 2 au fost împărțite în patru seturi de lame și trimise, câte un set o dată, către trei cititori calificați diferiți (patologi), un cititor în Centrul 1, unul în Centrul 2 și unul în Centrul 3. Patologii care nu cunoșteau statutul cazului și platforma de colorare au evaluat toate cele patru seturi de lame și au furnizat un scor clinic (0, 1+, 2+, 3+) pentru fiecare caz. Rezultatele au fost analizate cu Ventana. Ratele PPA (și limita inferioară a intervalelor de încredere bilaterale de 95%) pentru colorarea cu anticorul clonei 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark XT pe baza evaluării clinice (pozitivă, negativă) au fost de 91.6% (85.9), 91.2% (85.3) și 94.9% (89.3) pentru Cititorul A, Cititorul B și respectiv Cititorul C. Ratele NPA (și limita inferioară a intervalelor de încredere bilaterale de 95%) pentru colorarea cu anticorul clonei 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark XT pe baza evaluării clinice (pozitivă, negativă) au fost de 91.9 (85.8), 93.8% (88.3) și 99.3 (96.3) pentru Cititorul A, Cititorul B și respectiv Cititorul C. OPA dintre colorarea clonei 4B5 folosind instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark XT bazat pe analiza 2x2 a evaluării clinice (pozitiv, negativ) a fost de 91.8%, 92.5% și 97.4% pentru Cititorul A, Cititorul B și, respectiv, Cititorul C. Prezentarea 3x3 a ratelor de acord între platforme pentru fiecare cititor pe baza scorului clinic (0/1+, 2+, 3+) se găsește în tabelele de mai jos:

Tab 24. Analiza 3x3 a ratelor de acord între platforme cu instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark XT – Cititorul A.

Instrumentul BenchMark ULTRA	Instrumentul BenchMark XT			
Cititor A	3+	2+	0, 1+	Total
3+	84	11	1	96
2+	8	28	9	45
0, 1+	4	8	114	126
Total	96	47	124	267
Acord procentual general: n/N (%) (95% CI) 226/267 (84.6) (79.8–88.5)				

Tab 25. Analiza 3x3 a ratelor de acord între platforme cu instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark XT – Cititorul B.

Instrumentul BenchMark ULTRA	Instrumentul BenchMark XT			
Cititor B	3+	2+	0, 1+	Total
3+	64	2	1	67
2+	3	56	7	66
0, 1+	2	10	122	134
Total	69	68	130	267
Acord procentual general: n/N (%) (95% CI) 242/267 (90.6) (86.5–93.6)				

Tab 26. Analiza 3x3 a ratelor de acord între platforme cu instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark XT – Cititorul C.

Instrumentul BenchMark ULTRA	Instrumentul BenchMark XT			
Cititor C	3+	2+	0, 1+	Total
3+	64	1	0	65
2+	2	45	1	48
0, 1+	0	6	148	154
Total	66	52	149	267
Acord procentual general: n/N (%) (95% CI) 257/267 (96.3) (93.2–98.0)				

Reproductibilitatea între patologi pentru probele din studiul de comparare a instrumentelor

Ratele de acord pozitiv și negativ cu intervalele de încredere bilaterale de 95% ale scorurilor au fost calculate pentru cele șase posibile comparații pe perechi între cititori pentru fiecare platformă.

Pentru instrumentul BenchMark ULTRA, ratele PPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 94.7% (126/133), 98.2% (111/113), 98.2% (111/113), 89.4% (126/141), 78.7% (111/141) și respectiv 83.5% (111/133). Ratele NPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 88.8% (119/134), 80.5% (124/154), 85.7% (132/154), 94.4% (119/126), 98.4% (124/126) și respectiv 98.5% (132/134). Rata OPA a fost cea mai ridicată între Cititorul A și Cititorul B (91.8%) și mai scăzută între Cititorul B și Cititorul C (91.0%) și între Cititorul A și Cititorul C (88.8%).

Pentru instrumentul BenchMark XT, ratele PPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 94.9% (130/137), 98.3% (116/118), 98.3% (116/118), 90.9% (130/143), 81.1% (116/143) și respectiv 84.7% (116/137). Ratele NPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 90.0% (117/130), 81.9% (122/149), 85.9% (128/149), 94.4% (117/124), 98.4% (122/124) și respectiv 98.5% (128/130). Rata OPA a fost cea mai ridicată între Cititorul A și Cititorul B (92.5%) și mai scăzută între Cititorul B și Cititorul C (91.4%) și între Cititorul A și Cititorul C (89.1%).

Studiu pentru compararea iVIEW DAB Detection Kit cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit

Cohorta Centrului 1 de 140 de cazuri FFPE de carcinom mamar invaziv [aproximativ 35 de cazuri din fiecare categorie de grupare HER-2 (0, 1+, 2+, 3+)] a fost utilizată într-un studiu de comparare între iVIEW DAB Detection Kit și *ultraView* Universal DAB Detection Kit la colorarea cu clona 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA. La studiul pentru compararea detecției au participat un singur laborator de colorare și trei locuri de citire din Statele Unite. Pentru colorarea cu anticorul clonei 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA, ratele PPA între rezultatele obținute utilizând metodele iVIEW DAB Detection Kit și *ultraView* Universal DAB Detection Kit bazate pe evaluarea clinică (pozitivă, negativă) au fost de 95.8% (68/71), 96.9% (63/65) și 96.5% (55/57) pentru Cititorul A, B și respectiv C, iar ratele NPA între metodele de detecție au fost de 90.8% (59/65), 91.5% (65/71) și 97.5% (77/79) pentru Cititorul A, B și respectiv C. Ratele OPA dintre kiturile de detecție au fost 93.4% (127/136), 94.1% (128/136) și, respectiv, 97.1% (132/136) pentru Cititorii A, B și C. Prezentarea 3x3 a ratelor de acord pentru compararea detecției pentru fiecare cititor pe baza scorului clinic (0/1+, 2+, 3+) se găsește în tabelele de mai jos:

Tab 27. Analiza 3x3 a ratelor de acord cu Cititorul A, iVIEW DAB Detection Kit comparativ cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit – colorarea cu clona 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA.

iVIEW DAB Detection Kit	<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit			
Cititor A	3+	2+	0, 1+	Total
3+	43	5	0	48

iVIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Cititor A	3+	2+	0, 1+	Total
2+	3	17	6	26
0, 1+	0	3	59	62
Total	46	25	65	136
Acord procentual general: n/N (%) (95% CI) 119/136 (87.5) (80.9–92.0)				

Tab 28. Analiza 3x3 a ratelor de acord cu Cititorul B, iVIEW DAB Detection Kit comparativ cu ultraView Universal DAB Detection Kit – colorarea cu clona 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA.

iVIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Cititor B	3+	2+	0, 1+	Total
3+	32	0	0	32
2+	0	31	6	37
0, 1+	1	1	65	67
Total	33	32	71	136
Acord procentual general: n/N (%) (95% CI) 128/136 (94.1) (88.8–97.0)				

Tab 29. Analiza 3x3 a ratelor de acord cu Cititorul C, iVIEW DAB Detection Kit comparativ cu ultraView Universal DAB Detection Kit – colorarea cu clona 4B5 pe instrumentul BenchMark ULTRA.

iVIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Cititor C	3+	2+	0, 1+	Total
3+	32	0	0	32
2+	0	23	2	25
0, 1+	0	2	77	79
Total	32	25	79	136
Acord procentual general: n/N (%) (95% CI) 132/136 (97.1) (92.7–98.9)				

Reproductibilitatea între patologi pentru probele din studiul de comparare a detecției:

Ratele de acord pozitiv și negativ cu intervalele de încredere bilaterale de 95% ale scorurilor au fost calculate pentru cele șase posibile comparații pe perechi între cititori pentru fiecare metodă.

Pentru iVIEW DAB Detection Kit, ratele PPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 100.0% (69/69), 98.2% (56/57), 96.5% (55/57), 93.2% (69/74), 75.7% (56/74) și respectiv 79.7% (55/69). Ratele NPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 92.5% (62/67), 77.2% (61/79), 82.3% (65/79), 100.0% (62/62), 98.4% (61/62) și respectiv 97.0% (65/67). Rata de acord general a fost cea mai ridicată între Cititorul A și Cititorul B (96.3%) și mai mică între Cititorul A și Cititorul C (86.0%) și Cititorul B și Cititorul C (88.2%).

Pentru ultraView Universal DAB Detection Kit, ratele PPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 96.9% (63/65), 98.2% (56/57), 98.2% (56/57), 88.7% (63/71), 78.9% (56/71) și respectiv 86.2% (56/65). Ratele NPA pentru Cititorul A comparativ cu B, A comparativ cu C, B comparativ cu C, B comparativ cu A, C comparativ cu A și C comparativ cu B au fost de 88.7% (63/71), 81.0% (64/79), 88.6% (70/79), 96.9% (63/65), 98.5% (64/65) și respectiv 98.6% (70/71). Ratele de acord general au fost similare pentru fiecare pereche de cititori, 92.6% (126/136), 88.2% (120/136) și 92.6% (126/136) pentru Cititorul A comparativ cu Cititorul B, Cititorul A comparativ cu Cititorul C și, respectiv, Cititorul B comparativ cu Cititorul C.

Performanța analitică în cazurile gastrice

Studii privind precizia instrumentelor BenchMark ULTRA și BenchMark XT:

Repetabilitatea între teste pe instrumentul BenchMark XT a fost efectuată cu cinci testări efectuate pe o perioadă de 5 zile (neconsecutive). Cinci lame care conțin trei cazuri de țesut gastric cu scorurile 0, 1+, 2+ și 3+ ale exprimării HER2 au demonstrat un acord de 100% în ceea ce privește valoarea pozitivă/negativă pentru fiecare țesut.

Repetabilitatea în cadrul aceleiași testări pe instrumentul BenchMark XT a fost efectuată pe 28 de lame conținând trei cazuri de țesut gastric cu scorurile 0, 1+, 2+ și 3+ ale exprimării HER2. Toate cazurile au avut un scor echivalent în valoarea pozitivă/negativă pentru fiecare tip de țesut.

Repetabilitatea în cadrul aceleiași platforme a fost efectuată cu trei instrumente BenchMark XT. În aceste testări, toate cele 30 de lame cu fiecare dintre cele două blocuri diferite de țesuturi multiple conținând trei cazuri de țesut gastric cu scoruri de 0, 1+, 2+ și 3+ ale exprimării HER2 au prezentat scoruri echivalente în ceea ce privește valoarea pozitivă/negativă pentru fiecare tip de țesut.

Repetabilitatea în cadrul aceleiași platforme a fost testată pe trei instrumente BenchMark ULTRA. În aceste testări, toate cele 15 de lame dintr-un bloc de țesuturi multiple au prezentat scoruri echivalente în ceea ce privește valoarea pozitivă/negativă pentru fiecare tip de țesut.

Repetabilitatea între platforme a fost testată pe trei instrumente BenchMark XT și trei instrumente BenchMark ULTRA. În aceste testări, toate cele 30 de lame dintr-un bloc de țesuturi multiple au prezentat scoruri echivalente în ceea ce privește valoarea pozitivă/negativă pentru fiecare tip de țesut.

Comparație între iVIEW DAB Detection Kit și ultraView Universal DAB Detection Kit utilizând cazuri gastrice

Clona 4B5 a fost utilizată pentru compararea kiturilor de detecție între două instrumente (instrumentul BenchMark XT și instrumentul BenchMark ULTRA), utilizând iVIEW DAB Detection Kit și ultraView Universal DAB Detection Kit. Două sute și zece cazuri de țesut au fost utilizate ca parte a testării. Lamele colorate au fost evaluate pentru stabilirea scorului clinic pozitiv/negativ.

Ratele de acceptabilitate morfologică și de fond au fost de 100% pentru ambele kituri de detecție și instrumente. Comparațiile directe pentru evaluarea clinică pozitivă și negativă între kiturile de detecție pentru fiecare instrument sunt prezentate în următoarele tabele.

Tab 30. Evaluarea clinică pentru ultraView Universal DAB Detection Kit comparativ cu iVIEW DAB Detection Kit pe instrumentul BenchMark XT.

ultraView Universal DAB Detection Kit	iVIEW DAB Detection Kit		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	21	0	21
Negativă	0	189	189
Total	21	189	210
	n/N	% (95% CI)	
Acord procentual pozitiv	21/21	100 (84.5–100)	
Acord procentual negativ	189/189	100 (98.0–100)	
Acord procentual general	210/210	100 (98.2–100)	

Tab 31. Comparația evaluării clinice pe instrumentele BenchMark XT și BenchMark ULTRA utilizând ultraView Universal DAB Detection Kit.

Instrumentul BenchMark XT cu ultraView Universal DAB Detection Kit	Instrumentul BenchMark ULTRA cu ultraView Universal DAB Detection Kit		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	20	1	21
Negativă	0	189	189
Total	20	190	210
	n/N	% (95% CI)	
Acord procentual pozitiv	20/20	100 (83.9–100)	

Instrumentul BenchMark XT cu <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	Instrumentul BenchMark ULTRA cu <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit		
	Pozitivă	Negativă	Total
Acord procentual negativ	189/190	99.5 (97.1–99.9)	
Acord procentual general	209/210	99.5 (97.4–99.9)	

Reproductibilitatea între laboratoare a clonei 4B5 în carcinomul gastric:

Studiul a fost efectuat în trei centre de testare. Probele au fost selectate pentru includerea în studiu pe baza scorului clinic IHC pentru clona 4B5, astfel încât să existe un număr aproximativ egal de cazuri pozitive (3+) și negative (0, 1+). În plus, au fost studiate până la patru cazuri de cancer gastric calificate ca 2+.

Cele trei centre au utilizat fiecare câte un instrument BenchMark XT și un instrument BenchMark ULTRA pentru a efectua patru cicluri de colorare pe fiecare instrument. Cazurile au fost randomizate pentru colorare utilizând o procedură de stratificare randomizată care a alocat cazurile, astfel încât fiecare testare să conțină cazuri care să reprezinte toate categoriile de scoruri pentru HER2 în cancerul gastric. Ciclurile pe fiecare instrument de la fiecare centru au conținut aceleași cazuri. În fiecare centru, câte o lamă pentru fiecare caz a fost colorată cu clona 4B5, iar o altă lamă pentru același caz a fost colorată cu CONFIRM Negative Control Rabbit Ig pe instrumentul BenchMark ULTRA. O a doua pereche de lame din același caz a fost colorată în mod similar pe instrumentul BenchMark XT la fiecare centru. Scorurile pentru lamele cazurilor au fost stabilite de un cititor calificat la fiecare centru care nu cunoștea scorurile clinice IHC determinate anterior pentru fiecare probă.

Acordul general pentru toate cazurile evaluabile a fost de 100% pentru toate cele trei comparații între centre pe instrumentul BenchMark ULTRA și instrumentul BenchMark XT. Acordul general între instrumentul BenchMark ULTRA și instrumentul BenchMark XT pentru cazurile evaluabile a fost de 100% la fiecare dintre cele trei centre. Ratele de acceptabilitate de fond și acceptabilitate morfologică au fost de 100% pentru ambele instrumente la Centrele A și C și > 95% pentru ambele instrumente la Centrul B. Consultați tabelele de mai jos.

Tab 32. Acordul general al evaluărilor clinice între centre: carcinom gastric, toate cazurile evaluabile.

Instrumentul BenchMark ULTRA	Acord procentual general (cazuri pozitive și negative)	Acord procentual general (inclusiv cazurile echivoce)
Centrul A comparativ cu Centrul B: n/N (%) (95% CI)	30/30 (100%) (88.6–100)	38/42 (90.5%) (77.9–96.2)
Centrul A comparativ cu Centrul C: n/N (%) (95% CI)	30/30 (100%) (88.6–100)	35/42 (83.3%) (69.4–91.7)
Centrul B comparativ cu Centrul C: n/N (%) (95% CI)	30/30 (100%) (88.6–100)	31/42 (73.8%) (58.9–84.7)
Instrumentul BenchMark XT	Acord procentual general (cazuri pozitive și negative)	Acord procentual general (inclusiv cazurile echivoce)
Centrul A comparativ cu Centrul B: n/N (%) (95% CI)	31/31 (100%) (89.0–100.0)	36/43 (83.7%) (70.0–91.9)
Centrul A comparativ cu Centrul C: n/N (%) (95% CI)	31/31 (100%) (89.0–100.0)	36/43 (83.7%) (70.0–91.9)
Centrul B comparativ cu Centrul C: n/N (%) (95% CI)	31/31 (100%) (89.0–100.0)	35/43 (81.4%) (67.4–90.3)

Tab 33. Acordul general al evaluărilor clinice între platforme: carcinom gastric, toate cazurile evaluabile.

Instrumentul BenchMark ULTRA comparativ cu instrumentul BenchMark XT	Acord procentual general (cazuri pozitive și negative)	Acord procentual general (inclusiv cazurile echivoce)
Centrul A: n/N (%) (95% CI)	40/40 (100%) (91.2–100)	42/44 (95.5%) (84.9–98.7)
Centrul B: n/N (%) (95% CI)	34/34 (100%) (89.8–100)	37/42 (88.1%) (75.0–94.8)
Centrul C: n/N (%) (95% CI)	32/32 (100%) (89.3–100)	38/44 (86.4%) (73.3–93.6)

Tab 34. Rate de colorare de fond și acceptabilitate morfologică: carcinom gastric, toate cazurile.

Instrumentul BenchMark ULTRA	Centrul A	Centrul B	Centrul C
Rate de acceptabilitate morfologică	44/44 (100%)	43/44 (97.7%)	44/44 (100%)
Rate de acceptabilitate de fond	44/44 (100%)	42/44 (95.5%)	44/44 (100%)
Instrumentul BenchMark XT	Centrul A	Centrul B	Centrul C
Rate de acceptabilitate morfologică	44/44 (100%)	43/44 (97.7%)	44/44 (100%)
Rate de acceptabilitate de fond	44/44 (100%)	43/44 (97.7%)	44/44 (100%)

Studiu pentru compararea instrumentelor BenchMark și BenchMark GX cu instrumentul BenchMark XT: Carcinom gastric

Lame tăiate cu 3 TMA ce conțin cazuri FFPE de carcinom gastric [aproximativ 50 de cazuri pentru fiecare TMA] au fost colorate pe un instrument BenchMark XT, un instrument BenchMark și un instrument BenchMark GX, utilizând protocoalele de colorare recomandate respective pentru *ultraView* Universal DAB Detection Kit și iVIEW DAB Detection Kit. Controlurile au inclus PATHWAY HER-2 4 în 1 Control Slides și o a doua lamă din fiecare TMA colorată cu reactiv Ig negativ. Scorurile lamelor colorate au fost stabilite de un cititor (patolog).

Ratele de acord general (și limita inferioară a intervalului de încredere bilaterale de 95%) pentru colorarea cu anticorpii clonei 4B5 pe baza evaluării clinice (pozitiv, negativ) au fost după cum urmează: Instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit 98.0% (94.2–99.3), instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit 97.4% (93.6–99.0), instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu iVIEW DAB Detection Kit 96.6% (92.7–98.4), instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu iVIEW DAB Detection Kit 95.9% (91.8–98.0).

Ratele de acord pozitiv (și limita inferioară a intervalului de încredere bilaterale de 95%) pentru colorarea cu anticorpii clonei 4B5 pe baza evaluării clinice (pozitiv, negativ) au fost după cum urmează: Instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit 91.7% (64.4–98.5), instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit 78.6% (52.4–92.4), instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu iVIEW DAB Detection Kit 80.0% (54.8–93.0), instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu iVIEW DAB Detection Kit 73.3% (48.0–89.1).

Ratele de acord negativ (și limita inferioară a intervalului de încredere bilaterale de 95%) pentru colorarea clonei 4B5 pe baza evaluării clinice (pozitiv, negativ) au fost după cum urmează: Instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit 98.5% (94.8–99.6), instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit 99.3% (96.1–99.9), instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu

iVIEW DAB Detection Kit 98.1% (94.6–99.4), instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu iVIEW DAB Detection Kit 98.1% (94.5–99.3). Prezentarea 2x2 a ratelor de acord pentru fiecare comparare bazată pe evaluarea clinică (pozitivă, negativă) sunt prezentate în tabelele de mai jos.

Tab 35. Analiza 2x2 a ratelor de acord între platforme pentru instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit: carcinom gastric.

Clona 4B5 cu <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit			
Instrumentul BenchMark	Instrumentul BenchMark XT		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	11	2	13
Negativă	1	133	134
Total	12	135	147
	n/N	% (95% CI)	
Acord procentual general	144/147	98.0% (94.2–99.3)	
Acord procentual pozitiv	11/12	91.7% (64.6–98.5)	
Acord procentual negativ	133/135	98.5% (94.8–99.6)	

Tab 36. Analiza 2x2 a ratelor de acord între platforme pentru instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit: carcinom gastric.

Clona 4B5 cu <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit			
Instrumentul BenchMark GX	Instrumentul BenchMark XT		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	11	1	12
Negativă	3	140	143
Total	14	141	155
	n/N	% (95% CI)	
Acord procentual general	151/155	97.4% (93.6–99.0)	
Acord procentual pozitiv	11/14	78.6% (52.4–92.4)	
Acord procentual negativ	140/141	99.3% (96.1–99.9)	

Tab 37. Analiza 2x2 a ratelor de acord între platforme pentru instrumentul BenchMark comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu iVIEW DAB Detection Kit: carcinom gastric.

Clona 4B5 cu iVIEW DAB Detection Kit			
Instrumentul BenchMark	Instrumentul BenchMark XT		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	12	3	15
Negativă	3	156	159
Total	15	159	174
	n/N	% (95% CI)	
Acord procentual general	168/174	96.6% (92.7–98.4)	
Acord procentual pozitiv	12/15	80.0% (54.8–93.0)	
Acord procentual negativ	156/159	98.1% (94.6–99.4)	

Tab 38. Analiza 2x2 a ratelor de acord între platforme pentru instrumentul BenchMark GX comparativ cu instrumentul BenchMark XT cu iVIEW DAB Detection Kit: carcinom gastric.

Clona 4B5 cu iVIEW DAB Detection Kit			
Instrumentul BenchMark GX	Instrumentul BenchMark XT		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	11	3	14
Negativă	4	154	158
Total	15	157	172
	n/N	% (95% CI)	
Acord procentual general	165/172	95.9% (91.8–98.0)	
Acord procentual pozitiv	11/15	73.3% (48.0–89.1)	
Acord procentual negativ	154/157	98.1% (94.5–99.3)	

PERFORMANȚĂ CLINICĂ

Cancer mamar cu nivel scăzut al HER2

Studiu privind rezultatul clinic – DESTINY-BREAST04

DESTINY-BREAST04 a fost un studiu de fază III, randomizat, multicentric, în regim deschis, controlat cu substanță activă, pentru evaluarea siguranței și eficacității trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) la subiecți cu cancer mamar inoperabil și/sau metastatic cu nivel scăzut de exprimare a HER2.

Pentru a fi eligibile pentru includerea în studiu, a fost necesar ca tumorile să demonstreze niveluri scăzute de exprimare a HER2 determinate folosind IHC cu anticorpii anti-HER2 (4B5).

A fost luată în considerare o tumoră cu un scor HER2 IHC de 1+ pentru a indica un statut scăzut al HER2. De asemenea, o tumoră a fost considerată ca având un nivel scăzut al HER2 dacă scorul HER2 IHC a fost 2+ și testul reflex efectuat cu testul INFORM HER2 Dual ISH a indicat absența amplificării genei HER2 (ISH-). Pacienții înscriși au fost randomizați într-un raport de 2:1 la tratamentul cu trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) sau cu tratamentul chimioterapic la alegerea medicului. Scorul scăzut al HER2 (IHC 1+ sau IHC 2+/ISH-) obținut la nivel central a fost unul dintre cei 3 factori de stratificare utilizați pentru randomizarea pacienților în studiul menționat.

Analizele privind eficacitatea au fost efectuate pe eșantionul complet pentru analiză și populația pozitivă pentru receptorul hormonal (pozitivă pentru receptor de estrogen și/sau receptorul de progesteron).

În această analiză primară, supraviețuirea fără progresie (PFS) bazată pe evaluarea prin revizuirea independentă la nivel central în orb (BICR) a fost analizată în cadrul subsetului cu rezultat pozitiv pentru receptorul hormonal, cu stratificare pe baza statutului/scorului de nivel scăzut al HER2 (IHC 1+ sau IHC 2+/ISH-), numărul de linii de chimioterapie anterioare (1 sau 2) și tratamentul anterior cu un inhibitor dependent de ciclină (CDK)4/6 (da sau nu). Tratamentul cu trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) a fost asociat cu o creștere semnificativă statistic și clinic a PFS, precum și a ratei de supraviețuire generală (OS) la această populație, în comparație cu tratamentul ales de către medic.

Tab 39. PFS și OS per BIRC în populația pozitivă pentru receptorul hormonal și eșantionul complet pentru analiză (DESTINY-BREAST04)

Parametru	Populația pozitivă pentru receptorul hormonal		Eșantion complet pentru analiză	
	Trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) N = 331	Tratamentul decis de medic N = 163	Trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) N = 373	Tratamentul decis de medic N = 184
PFS mediană a (95% CI)	10.1 (9.5, 11.5)	5.4 (4.4, 7.1)	9.9 (9.0, 11.3)	5.1 (4.2, 6.8)
Rata de risc b (95% CI)	0.51 (0.40, 0.64)		0.50 (0.40, 0.63)	
Valoare p c	< 0.0001		< 0.0001	

Parametru	Populația pozitivă pentru receptorul hormonal		Eșantion complet pentru analiză	
	Trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) N = 331	Tratamentul decis de medic N = 163	Trastuzumab deruxtecan (ENHERTU®) N = 373	Tratamentul decis de medic N = 184
Rată de supraviețuire generală (OS)				
OS mediană a (95% CI)	23.9 (20.8, 24.8)	17.5 (15.2, 22.4)	23.4 (20.0, 24.8)	16.8 (14.5, 20.0)
Rata de risc b (95% CI)	0.64 (0.48, 0.86)		0.64 (0.49, 0.84)	
Valoare p c	0.0028		0.0010	

CI = interval de încredere, PFS = supraviețuire fără progresie, OS = rată de supraviețuire generală

^a PFS mediană și OS mediană au fost estimate pe baza analizei Kaplan-Meier. Intervalele de încredere bilaterale de 95% pentru mediana PFS și OS au fost calculate pe baza metodei Brookmeyer-Crowley.

^b Pe baza modelului de risc proporțional stratificat Cox. Factorii de stratificare au fost scorul scăzut al HER2, numărul de linii de chimioterapie anterioare și tratamentul anterior cu inhibitori de kinază dependentă de ciclină 4/6 (pentru eșantionul complet pentru analiză și cazurile pozitive pentru receptori hormonal) sau statutul de receptor hormonal/kinază dependentă de ciclină (pentru eșantionul complet pentru analiză).

^c Valoare p bilaterală pe baza testului log-rank stratificat.

Cancer mamar pozitiv pentru HER2

Studii pentru compararea anticorpului monoclonal de iepure al clonei 4B5 cu PATHWAY anti-HER2 (CB11) Mouse Monoclonal Antibody în cancerul mamar S-a efectuat un studiu pentru compararea metodelor pentru a examina corelația dintre clona 4B5 și PATHWAY anti-HER2 (CB11) Mouse Monoclonal Antibody (anticorpul PATHWAY anti-HER2 (CB11)) și PathVysion HER2 FISH, ambele fiind teste de diagnostic aprobate anterior. La studiu au participat șase investigații. În studiu au fost utilizate două cohorte independente de probe de cancer mamar invaziv: una cu 178 de probe de la Cleveland Clinic Foundation (Cohorta 1) și una cu 144 de probe recoltate de IMPATH Predictive Oncology din mai multe centre internaționale (Cohorta 2). Două seturi a câte trei investigații diferite au evaluat două cohorte independente (Cohorta 1: n = 178, Cohorta 2: n = 144) utilizând cazuri de cancer mamar colorate cu anticorpul PATHWAY anti-HER2 (CB11) și clona 4B5. Datele FISH au fost obținute din istoricul pacientului. Un scor de consens al celor trei cititori pentru fiecare anticorp a fost creat pentru fiecare caz, pentru a reduce variabilitatea în cazul aceluiași cititor, cunoscută în stabilirea scorurilor HER2.^{42,43,44} Au fost evaluate în total 322 de cazuri. Lamele colorate cu anticorpul PATHWAY anti-HER2 (CB11) au fost procesate și colorate conform instrucțiunilor producătorului specificate în fișa de descriere a metodei pentru anticorpul PATHWAY anti-HER2 (CB11). A existat o medie de aproximativ un an între colorarea și citirea lamelor colorate cu anticorpul PATHWAY anti-HER2 (CB11). Mai jos sunt prezentate rezultatele semnificative clinic (pozitive/negative) ale testului HER2 (4B5) IHC și ale testului PATHWAY anti-HER2 (CB11) IHC pentru cele două cohorte:

Tab 40. Scoruri semnificative clinic: Teste IHC pentru Cohorta 1

Anticorp HER2 (4B5)	Anticorp PATHWAY anti-HER2 (CB11)		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	86	5	91
Negativă	7	80	87
Total	93	85	178
	n/N	% (interval de încredere de 95%)	
Acord procentual pozitiv	86/93	92.5% (85.2–96.9)	
Acord procentual negativ	80/85	94.1 (86.8–98.1)	
Acord procentual general	166/178	93.3 (88.5–96.4)	

Anticorp HER2 (4B5)	Anticorp PATHWAY anti-HER2 (CB11)		
	Pozitivă	Negativă	Total
Rezultatele semnificative clinic au fost considerate pozitive (2+ și 3+) și negative (0+ și 1+) prin IHC			

Tab 41. Scoruri semnificative clinic: Teste IHC pentru cohorta 2

Anticorp HER2 (4B5)	Anticorp PATHWAY anti-HER2 (CB11)		
	Pozitivă	Negativă	Total
Pozitivă	69	22	91
Negativă	0	53	53
Total	69	75	144
	n/N	% (interval de încredere de 95%)	
Acord procentual pozitiv	69/69	100 (97.5–100)	
Acord procentual negativ	53/75	70.6 (58.5–80.1)	
Acord procentual general	122/144	84.7 (78.2–90.0)	
Rezultatele semnificative clinic au fost considerate pozitive (2+ și 3+) și negative (0+ și 1+) prin IHC			

Rezultatele bazate pe IHC din testul HER2 (4B5) IHC au fost comparate și cu rezultatele testului PathVysion HER2 FISH. Rezultatele IHC pozitive corespund cazurilor cu un scor IHC egal cu 2+ sau 3+, iar rezultatele FISH pozitive corespund cazurilor care au demonstrat amplificarea genei HER2. Mai jos sunt prezentate datele privind acordul pentru testul IHC al clonei 4B5 prin comparație cu rezultatele FISH pentru cele două cohorte:

Tab 42. Acord semnificativ clinic: IHC cu FISH pentru Cohorta 1

Anticorp HER2 (4B5)	n/N	% (interval de încredere de 95%)
Acord procentual pozitiv	83/93	89.2 (82.5–95.1)
Acord procentual negativ	77/85	90.6 (84.0–96.4)
Acord procentual general	160/178	90.0 (85.4–93.6)

Tab 43. Acord semnificativ clinic: IHC cu FISH pentru Cohorta 2

Anticorp HER2 (4B5)	n/N	% (interval de încredere de 95%)
Acord procentual pozitiv	80/86	93.0 (87.9–96.3)
Acord procentual negativ	47/58	81.0 (73.4–86.0)
Acord procentual general	127/144	88.2 (82.1–92.2)

Concluzie: Acest studiu a demonstrat că există o concordanță semnificativă (acord general între rezultatele pozitive/negative) între testul clonei 4B5 și testul PATHWAY anti-HER2 (CB11), demonstrând că testul VENTANA HER2 (4B5) este o alternativă acceptabilă a testului PATHWAY anti-HER2 (CB11) pentru utilizarea ca auxiliar în evaluarea pacienților cu cancer mamar pentru care se ia în considerare tratamentul cu trastuzumab (Herceptin). Acest studiu a demonstrat, de asemenea, că rezultatele exprimării HER2 obținute din testul clonei 4B5 IHC sunt comparabile cu rezultatele statutului genei HER2 determinate prin analiza FISH.

Compararea cu testul de înscriere în studiile PERJETA (pertuzumab) și KADCYLA (trastuzumab emtansine) în carcinomul mamar

Concordanța cu testele de înscriere pentru cohortele din studiile PERJETA și KADCYLA a fost determinată prin colorarea probelor de studiu cu testul VENTANA HER2 (4B5). Un total de 2753 de probe evaluate pentru studiul PERJETA și 99 de probe evaluate pentru studiul KADCYLA au fost colorate cu testul VENTANA HER2 (4B5). Au fost determinate ratele de acord (PPA, NPA și OPA). 95% CI (intervalul de încredere de 95% bilateral) a fost calculat utilizând metoda scorului.

Tab 44. Acordul dintre clona 4B5 și testele Dako cu privire la statutul HER2 pentru toți subiecții HER2 evaluabili. Subiecții evaluabili IHC au un statut HER2 pozitiv sau negativ determinat atât de clona 4B5, cât și de testul IHC pentru înscriere.

Studiu	Scorul clonei 4B5 ^b	Statutul Dako HER2 ^{a,b}		
		Pozitivă	Negativă	Total
PERJETA și KADCYLA	3+	2380	15	2395
	2+	140	122	262
	0/1+	38	135	173
	Total	2558	272	2830
	Acord procentual pozitiv n/N (%) (95% CI)	2380/2558 (93.0) (92.0–94.0)		
	Acord procentual negativ n/N (%) (95% CI)	257/272 (94.5) (91.1–96.6)		
	Acord procentual general n/N (%) (95% CI)	2637/2830 (93.2) (92.2–94.1)		

^a Pozitiv = IHC pozitiv și/sau ISH amplificat. Negativ = IHC negativ și neamplificat ISH sau neamplificat ISH și nepozitiv IHC.

^b IHC: Pozitiv = 3+; Negativ = 0, 1+ sau 2+.

Tab 45. Acordul dintre clona 4B5 și testele Dako cu privire la statutul IHC pentru toți subiecții IHC evaluabili. Subiecții evaluabili IHC au un statut HER2 pozitiv sau negativ determinat atât de clona 4B5, cât și de testul IHC pentru înscriere.

Studiu	Statutul clonei 4B5 ^a	Statutul Dako HercepTest ^a		
		Pozitivă	Negativă	Total
PERJETA și KADCYLA	Pozitivă	2330	65	2395
	Negativă	21	414	435
	Total	2351	479	2830
	Acord procentual pozitiv n/N (%) (95% CI)	2330/2351 (99.1) (98.6–99.4)		
	Acord procentual negativ n/N (%) (95% CI)	414/479 (86.4) (83.1–89.2)		
	Acord procentual general n/N (%) (95% CI)	2744/2830 (97.0) (96.3–97.5)		
PERJETA	Pozitivă	2267	63	2330
	Negativă	10	399	409
	Total	2277	462	2739
	Acord procentual pozitiv n/N (%) (95% CI)	2267/2277 (99.6) (99.2–99.8)		
	Acord procentual negativ n/N (%) (95% CI)	399/462 (86.4) (82.9–89.2)		

Studiu	Statutul clonei 4B5 ^a	Statutul Dako HercepTest ^a		
		Pozitivă	Negativă	Total
KADCYLA	Acord procentual general n/N (%) (95% CI)	2666/2739 (97.3) (96.7–97.9)		
	Pozitivă	63	2	65
	Negativă	11	15	26
	Total	74	17	91
	Acord procentual pozitiv n/N (%) (95% CI)	63/74 (85.1) (75.3–91.5)		
	Acord procentual negativ n/N (%) (95% CI)	15/17 (88.2) (65.7–96.7)		
	Acord procentual general n/N (%) (95% CI)	78/91 (85.7) (77.1–91.5)		

^a Pozitiv = 3+; Negativ = 0, 1+ sau 2+.

Tab 46. Acordul dintre clona 4B5 și testele Dako cu privire la scorul IHC pentru toți subiecții evaluabili prin IHC. Subiecții evaluabili IHC au un statut HER2 pozitiv sau negativ determinat atât de clona 4B5, cât și de testul IHC pentru înscriere.

Studiu	Scorul clonei 4B5	Scorul Dako HercepTest			
		3+	2+	0/1+	Total
PERJETA și KADCYLA	3+	2330	64	1	2395
	2+	12	235	15	262
	0/1+	9	26	138	173
	Total	2351	325	154	2830
	Acord procentual general n/N (%) (95% CI)	2703/2830 (95.5) (94.7–96.2)			
PERJETA	3+	2267	62	1	2330
	2+	9	226	13	248
	0/1+	1	24	136	161
	Total	2277	312	150	2739
	Acord procentual general n/N (%) (95% CI)	2629/2739 (96.0) (95.2–96.7)			
KADCYLA	3+	63	2	0	65
	2+	3	9	2	14
	0/1+	8	2	2	12
	Total	74	13	4	91

		Scorul Dako HercepTest			
Studiu	Scorul clonei 4B5	3+	2+	0/1+	Total
	Acord procentual general n/N (%) (95% CI)	74/91 (81.3) (72.1–88.0)			

Tab 47. Acceptabilitatea colorării clonei 4B5. Subiecți testați IHC. Colorarea IHC este considerată acceptabilă dacă s-a putut stabili un scor IHC valid (0, 1+, 2+ sau 3+). Motivele pentru o colorare inacceptabilă includ un control negativ inacceptabil, pierderea de țesut, insuficiența tumorii, un fond inacceptabil și o morfologie inacceptabilă.

Parametru	PERJETA	KADCYLA	PERJETA și KADCYLA
Numărul de teste IHC inițiale	2753	99	2852
Acceptabilitatea inițială a colorării n/N (%) (95% CI)	2708/2753 (98.4) (97.8, 98.8)	92/99 (92.9) (86.1, 96.5)	2800/2852 (98.2) (97.6, 98.6)
Numărul de teste IHC repetate	40	0	40
Acceptabilitatea finală a colorării n/N (%) (95% CI)	2746/2753 (99.7) (99.5, 99.9)	92/99 (92.9) (86.1, 96.5)	2838/2852 (99.5) (99.2, 99.7)

Studiul privind rezultatele clinice – KATHERINE

Performanța clonei 4B5 a HER2 și INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail (testul INFORM HER2 Dual ISH) a fost investigată în KATHERINE (BO27938), un studiu randomizat, multicentric, în regim deschis, de fază III, pentru a evalua eficacitatea și siguranța medicamentului trastuzumab emtansine (KADCYLA) comparativ cu trastuzumab (Herceptin) ca tratament adjuvant la pacienții cu cancer mamar primar pozitiv pentru HER2 care au tumoră reziduală prezentă patologic la nivelul sânului sau ganglionilor limfatici axilari după tratamentul preoperator (NCT01772472).

Probele de la pacienți au fost colorate cu clona 4B5 și/sau INFORM HER2 Dual ISH și evaluate pentru acceptabilitatea colorării și statutul HER2. În general, cele mai multe probe au fost de biopsie anterioară tratamentului (80.9%), colectate în principal ca biopsie (75.3%) sau prin metode chirurgicale (24.3%). Mai multe probe au prezentat subtipul neoplazic ductal (95.4%) și majoritatea nu au fost obținute dintr-o probă metastatică (96.2%).

KATHERINE a înscris 1486 de pacienți cu cancer mamar pozitiv pentru HER2, cancer mamar timpuriu cu tumoră invazivă reziduală la nivelul sânului și/sau al ganglionilor limfatici axilari în urma tratamentului pe bază de taxan și trastuzumab ca parte a unui tratament neoadjuvant înainte de înscris. Pacienții au primit radioterapie și/sau terapie hormonală concomitent cu tratamentul din studiu, conform ghidurilor locale. A fost necesar ca probele de tumoră mamară să prezinte supraexpresia HER2 definită ca raport de amplificare 3+ IHC sau ISH ≥ 2.0 , determinat de un laborator central. Pacienții au fost randomizați (1:1) pentru tratamentul cu trastuzumab sau KADCYLA. Randomizarea a fost stratificată în funcție de stadiul clinic la prezentare, statutul receptorului hormonal, tratamentul preoperator orientat asupra HER2 (trastuzumab, trastuzumab plus agent/agenți orientat/oriențați asupra HER2) și statutul patologic al ganglionilor limfatici evaluat după tratamentul preoperator.

Punctul final de eficacitate primară a studiului KATHERINE a fost rata de supraviețuire fără boală invazivă (IDFS). IDFS a fost definită ca intervalul de la data randomizării până la prima apariție a recurenței tumorii mamare invazive ipsilaterale, recurenței cancerului mamar invaziv ipsilateral local sau regional, cancerului mamar invaziv contralateral sau decesului din orice cauză.

O ameliorare semnificativă clinic și statistic a IDFS a fost observată la pacienții ai căror probe de cancer mamar au fost identificate ca pozitive pentru HER2 cu testul IHC al clonei 4B5 cărora li s-a administrat trastuzumab emtansine (KADCYLA) comparativ cu trastuzumab (Herceptin) (HR = 0.43, 95% CI [0.32, 0.58]), corespunzător cu o reducere de

57% a riscului unui eveniment IDFS. Rezultatele eficacității pentru subgrupul IHC pozitiv sunt prezentate în Tab 48.

Analiza datelor arată, de asemenea, că fie cu, fie fără ajustarea eșantionării diferențiale a populației de studiu datorită preselecției locale pentru test, estimările privind eficacitatea medicamentului sunt similare.

Tab 48. Rezultatele eficacității din studiul KATHERINE pentru subgrupul IHC pozitiv.

	KADCYLA N = 573	Trastuzumab N = 559
Punct final primar	Rata de supraviețuire fără boală invazivă (IDFS) ^a	
Numărul (%) de pacienți cu evenimentul respectiv	64 (11.2%)	130 (23.3%)
HR [95% CI]	0.43 [0.32, 0.58]	
Rata de supraviețuire % fără evenimente la 3 ani ^b	89.0	75.7

^a Date din prima analiză intermediară

^b Rata de supraviețuire fără evenimente la 3 ani, derivată din estimările Kaplan-Meier

Datele din studiul KATHERINE arată că tratamentul adjuvant cu trastuzumab emtansine (KADCYLA) a demonstrat un beneficiu clar al tratamentului comparativ cu tratamentul adjuvant cu trastuzumab (Herceptin) la pacienții cu cancer mamar timpuriu pozitiv pentru HER2 cu boală reziduală după încheierea tratamentului neoadjuvant. Clona HER2 4B5 și testele INFORM HER2 Dual ISH sunt utile la identificarea pacienților care ar putea avea beneficii în urma tratamentului cu trastuzumab emtansine (KADCYLA).

Cancerul gastric

Compararea clonei 4B5 cu HercepTest în cancerul gastric uman

S-a efectuat un studiu extern, în orb, pentru a compara performanța de colorare a clonei 4B5 pe instrumentul BenchMark XT cu cea a Dako HercepTest. Au fost studiate două cohorte de probe, (1) microarray-uri de țesut (TMA) nou construite care conțin 248 de cazuri de cancer gastric (șase cazuri au fost identificate ulterior ca fiind duplicate și eliminate) și (2) un subset de 183 probe din studiul clinic Trastuzumab pentru cancerul gastric (ToGA), care a investigat statutul HER2 și rezultatul clinic la pacienții tratați cu Herceptin (trastuzumab). Laboratorul a colorat cazurile cu clona 4B5 și HercepTest. Un număr total de 431 de cazuri au fost colorate cu ambele teste și (după eliminarea cazurilor în duplicat) 398 de cazuri unice au fost incluse în comparație. Un patalog a stabilit scorul cazurilor pe o scară de 0/1+, 2+ și 3+. Cazurile pozitive au scorurile 2+ și 3+, iar cazurile negative au scorurile 0 și 1+. Ratele de acord dintre clona 4B5 și HercepTest pentru ambele cohorte studiate sunt furnizate în tabelul de mai jos.

Tab 49. Datele de acord pentru clona 4B5 (IHC) comparativ cu HercepTest în carcinomul gastric.

Sursa țesutului	Acord procentual general (95% CI)	Acord procentual pozitiv (95% CI)	Acord procentual negativ (95% CI)
TMA ^a & ToGA ^b	91.0 (87.7–93.4)	82.1 (70.2–90.0)	92.4 (89.1–94.8)
n	362/398	46/56	316/342

Rezultatele IHC au fost considerate pozitive (2+ și 3+) și negative pentru anticorp (0+ și 1+).

^a TMA: probe de țesut preparate prin tehnica microarray

^b ToGA: probe din studiul clinic ToGA

DEPANARE

- În cazul în care controlul pozitiv prezintă o colorare mai slabă decât cea preconizată, trebuie să verificați celelalte controale pozitive testate în cadrul aceleiași testări pe instrument, pentru a determina dacă acest lucru se datorează anticorpului primar sau unuia dintre reactivii secundari uzuali.
- În cazul în care controlul pozitiv este negativ, acesta trebuie verificat pentru a vă asigura că lama are eticheta cu codul de bare corect. Dacă lama este etichetată

corect, trebuie să verificați celelalte controale pozitive testate în cadrul aceleiași testări pe instrument, pentru a determina dacă acest lucru se datorează anticorpului primar sau unuia dintre reactivii secundari uzuali. Este posibil ca țesuturile să fie prelevate, fixate sau deparafinate incorect. Trebuie să urmați procedura adecvată pentru prelevare, depozitare și fixare.

3. Dacă parafina nu a fost îndepărtată în totalitate, este posibil să nu aibă loc nicio colorare. Procedura de deparafinare trebuie repetată.
4. Dacă secțiunile de țesut sunt spălate de pe lamă, lamele trebuie verificate pentru a vă asigura că sunt încărcate pozitiv.
5. În cazul în care colorarea nucleară și citoplasmatică sunt prezente în mucoasa normală în vecinătatea apropiată a zonei tumorale în carcinomul gastric și influențează interpretarea colorării membranei, cazul poate fi testat cu ISH.
6. Pentru acțiuni corective, consultați secțiunea Procedura de colorare din Ghidul de utilizare a instrumentului sau contactați reprezentantul de asistență local.

REFERINȚE

1. Akiyama T, et al. The product of the human c-erbB-2 Gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science*. 1986;232: 1644-1646.
2. Kraus MH, Popescu NC, Amsbaugh C, King RC. Overexpression of EGF receptor-related proto-oncogene erbB-2 in human mammary tumor cell lines by different molecular mechanisms. *EMBO*. 1987; 6: 605-610.
3. Schrohl AS, Pedersen HC, Jensen SS, Nielsen SL, Brünner N. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) immunoreactivity: specificity of three pharmacodiagnostic antibodies. *Histopathology*. 2011;59(5):975-983.
4. Jay JI, Brunhoeber PS, Smith MH, et al. Immunohistochemical analysis of the monoclonal antibody 4B5 in breast tissue expressing human epidermal growth factor receptor 4 (HER4). *Histopathology*. 2013;62(4):563-577.
5. Moasser MM. The Oncogene HER2: Its Signaling and Transforming Functions and Its Role in Human Cancer Pathogenesis. *Oncogene*. 2007;26(45):6469-6487.
6. Hsu JL, Hung MC. The Role of HER2, EGFR, and Other Receptor Tyrosine Kinases in Breast Cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2016;35(4):575-588.
7. Iqbal N, Iqbal N. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Mol Biol Int*. 2014;2014:852748.
8. Tarantino P, Hamilton E, Tolaney SM, et al. HER2-low Breast Cancer: Pathological and Clinical Landscape. *J Clin Oncol*. 2020;38:1951-1962.
9. Osborne CK, Shou J, Massarweh S, et al. Crosstalk between estrogen receptor and growth factor receptor pathways as a cause for endocrine therapy resistance in breast cancer. *Clin Cancer Res* 11:865s-870s, 2005.
10. Eiger D, Agostinetti E, Saude-Conde R, de Azambuja E. The Exciting New Field of HER2-low Breast Cancer Treatment. *Cancers (Basel)*. 2021;13.
11. Zhang H, Katerji H, Turner BM, Hicks DG. HER2-low Breast Cancers. *Am J Clin Pathol*. 2021.
12. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al: ToGA Trial Investigators: Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): A phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376: 687-697.
13. Subasinghe D, Acott N, Kumarasinghe MP. A Survival Guide to HER2 Testing in Gastric/Gastroesophageal Junction Carcinoma. *Gastrointest Endosc*. 2019;90(1):44-54.
14. Smyth EC, Verheij M, Allum W, et al. Gastric Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up. *Ann Oncol*. 2016;27(suppl 5):v38-v49.
15. Van Cutsem E, Bang YJ, Feng-Yi F, et al. HER2 Screening Data from Toga: Targeting HER2 in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer. *Gastric Cancer*. 2015;18(3):476-484.
16. The Global Cancer Observatory: Cancer Today (GLOBOCAN) 2020. International
17. Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142:1364-1382.
18. Dickson RB, and Lippman ME. Genes, Oncogenes, and Hormones. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1992.
19. Keatings, L. et al. c-erbB-2 oncoprotein expression in mammary and extramammary Paget's disease: an immunohistochemical study. *Histopathology*. 1990;17: 234-247.
20. Hudis CA. Trastuzumab--Mechanism of Action and Use in Clinical Practice. *N Engl J Med*. 2007;357(1):39-51.
21. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of Chemotherapy Plus a Monoclonal Antibody against Her2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001;344(11):783-792.
22. Herceptin (Trastuzumab) [Package Insert]. EMEA (European Medicines Agency). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000278/WC500074922.pdf. Published 01/03/2010. Updated 04/02/2011. Accessed October 2010.
23. von Minckwitz G, Huang CS, Mano MS, et al. Trastuzumab Emtansine for Residual Invasive HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2019;380(7):617-628.
24. Swain SM, Kim SB, Cortés J, Ro J, Semiglazov V, Campone M, Ciruelos E, Ferrero JM, Schneeweiss A, Knott A, Clark E, Ross G, Benyunes MC, Baselga J. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2013 May;14(6):461-71.
25. Moasser MM, Krop IE. The Evolving Landscape of HER2 Targeting in Breast Cancer. *JAMA Oncol*. 2015;1(8):1154-1161.
26. Modi S, Park H, Murthy RK, et al. Antitumor Activity and Safety of Trastuzumab Deruxtecan in Patients With HER2-low-Expressing Advanced Breast Cancer: Results From a Phase Ib Study. *J Clin Oncol*. 2020;38:1887-1896.
27. Modi S, Jacot W, Yamashita T, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Low Advanced Breast Cancer [published online ahead of print, 2022 Jun 5]. *N Engl J Med*. 2022;10.1056/NEJMoa2203690.
28. Cisló M, Filip AA, Arnold Offerhaus GJ, et al. Distinct Molecular Subtypes of Gastric Cancer: From Lauren to Molecular Pathology. *Oncotarget*. 2018;9(27):19427-19442.
29. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
30. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
31. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
32. Department of Health, Education and Welfare, National Institute of Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ No. 78-127, Current 13. August 16, 1976.
33. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.
34. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2017.
35. 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.
36. Hoffmann M, et al. Histopathology. 2008;52:797-805.
37. Rüschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenard MP, Penault-Llorca F, Nagelmeier I, Schlake W, Höfler H, Kreipe HH. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch*. 2010;457(3):299-307.
38. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem*. 1991;66(4):194-199.
39. Omata M, Liew CT, Ashcavi 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.
40. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med*. 1983;14:767.
41. Ahn S, Woo JW, Lee K, et al. HER2 status in breast cancer: changes in guidelines and complicating factors for interpretation. *J Pathol Trans Med*. 2020;54:34-44.
42. Thomson TA, Hayes MM, Spinelli JJ, Hiland E, Sawrenko C, and Phillip D, et al. HER-2/neu in breast cancer: interobserver variability and performance of immunohistochemistry with 4 antibodies compared with fluorescent *in situ* hybridization. *Mod Pathol*. 2001;14:1079-86.
43. Kay EW, Walsh CJ, Cassidy M, Curran B, Leader M. C-erbB-2 immunostaining: problems with interpretation. *J Clin Pathol*. 1994;47:816-22.

44. Bilous M, Dowsett M, Hanna W, Isola J, Lebeau A, Moreno A, Penault-Llorca F, Rüschoff J, Tomasic G, van de Vijver M. Current Perspectives on HER2 Testing: A Review of National Testing Guidelines. Mod Pathol. 2003;16:173-182.

NOTĂ: Punctul este utilizat întotdeauna în acest document ca separator zecimal pentru a marca limita dintre numărul întreg și părțile fracționale ale unui număr zecimal. Nu se utilizează separatoare pentru mii.

Rezumatul securității și performanței se regăsește aici:

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

Simboluri

Ventana utilizează următoarele simboluri și semne în plus față de cele menționate în standardul ISO 15223-1 (pentru USA: consultați elabdoc.roche.com/symbols pentru mai multe informații).



Numărul global al articolului comercial

Rx only

Pentru USA: Atenție: Legislația federală restricționează vânzarea acestui dispozitiv de către sau la ordinul unui medic.

ISTORICUL REVIZIILOR

Rev.	Actualizări
C	Au fost efectuate actualizări ale secțiunilor Procedura de colorare și Convenții de stabilire a scorului pentru carcinomul gastric în Tabelul 7. Au fost efectuate corecții ale terminologiei și punctuației. S-a adăugat instrumentul BenchMark ULTRA PLUS.

PROPRIETATE INTELECTUALĂ

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, INFORM, PATHWAY și ULTRAVIEW sunt mărci comerciale ale Roche. Toate celelalte nume de produs și mărci comerciale reprezintă proprietatea deținătorilor respectivi.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMAȚII DE CONTACT



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

www.roche.com



0123