

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

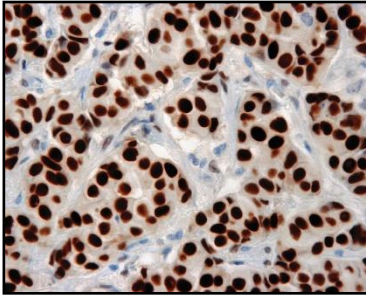
REF 790-4324  50

05278406001

REF 790-4325  250

05278414001

IVD



Şekil 1. Meme lobüler karsinomunun CONFIRM anti ER (SP1) antikoruna ile boyanması.

KULLANIM AMACI

CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-ER (SP1) antikor), östrojen reseptörü (ER) antijeninin, VENTANA otomatik slayt boyama aletinde VENTANA saptama kitleri ve yardımcı reaktifleriyle, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü meme dokusu kesitlerinde kalitatif saptanmasında laboratuvar kullanımına yöneliktir. CONFIRM anti-ER (SP1) antikor, ER pozitif normal ve neoplastik hücrelerin çekirdeğinde bulunan insan ER alfa proteinindeki bir

epitopu hedefler. CONFIRM anti-ER (SP1) antikor, meme karsinomuna yönelik hormon tedavisinin yönetimi, prognozu ve tahmininde yardımcı olarak endikedir.

Bu ürün, uzman bir patolog tarafından histolojik inceleme, ilgili klinik bilgiler ve doğru kontrollerle birlikte yorumlanmalıdır.

Sadece reçeteye kullanılır.

Bu antikor in vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

CONFIRM anti-ER (SP1) antikor, insan östrojen reseptörü (ER) alfa'yı tanıyan bir tavşan monoklonal antikorudur. ER, sırasıyla alfa ve beta izoformlarını kopyalayan ESR1 ve ESR2 adlı iki ayrı gen tarafından kodlanan bir nükleer hormon reseptörüdür.^{1,2} ER alfa, meme dokusundaki lümenal epitelyal hücrelerde eksprese olan primer izoformdur.^{1,2} ER aktivitesi normal meme bezi gelişimini tetikler ve yetişkin meme epitelinin ayırılmasını ve proliferasyonu için gereklidir.^{3,4} Neoplastik hücrelerde reseptörün aşırı ekspresyonu ile tetiklenen upregüle ER aktivitesi, hiperproliferasyon ve tümör oluşumu ile sonuçlanan bir dizi selüler olayı başlatır.⁵

Meme kanseri, kadınlarda kanser ile ilgili ölümlerin önde gelen nedenidir.⁶ Hastalığın teşhisi ve tedavisi erken saptamanın yanı sıra, prognostik ve prediktif faktörlere dayalı uygun bir tedavi stratejisine bağlıdır.^{7,8} ER, 1973'te meme kanserinde prognostik bir göstergesi olarak tanımlanmış ve endokrin tedavisine verilen yanıtın tahmin edilmesi yönünden değeri, 1986'da kapsamlı bir kohortta değerlendirilmiştir.^{9,10} ER, o zamandan bu yana, meme kanseri hastalarının yönetiminde paradigma tümör belirteçlerinden biri haline gelmiştir. Meme tümöründe yüksek ER konsantrasyonu, endokrin tedavisine verilen daha güçlü yanıtla ilişkilidir.^{7,8} ER durumuna ilişkin bilgi, hastaya yönelik tedavinin seçiminde önemli bir rol oynamakla birlikte tedavi seçiminin tek dayanağı değildir.^{7,8} ER varlığının olumlu bir uzun vadeli prognoz sağladığı bir dizi çalışmada gösterilmiştir.^{10,11} Klinik yönergeler ve en iyi uygulama önerileri, endokrin türü tedavilere yanıt verme olasılığı en yüksek olan hastaların belirlenmesinde, her primer invaziv meme kanseri vakasında ER durumunun değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.^{7,8} Seçici östrojen reseptörü modülatörleri, ER hiperaktivitesini azaltarak östrojen aracılı kanser büyümesini engeller ve reseptörün aşırı eksprese olduğu hastalarda endokrin (hormon) tedavisi olarak kullanılır.^{8,12} Mevcut durumda, ER pozitif karsinomlar için tercih edilen tedavi tamoksifenidir.^{7,8}

Yönergeler ve en iyi uygulama önerileri, immünohistokimyanın (IHC), meme kanserinde ER saptaması için tercih edilen yöntem olduğunu vurgulamaktadır.¹³ İnvaziv meme kanseri vakalarından oluşan büyük kohortlar üzerinde yapılan çalışmalarda, anti-ER clone SP1 antikorunun, ER saptaması için 1D5 ve 6F11 fare monoklonal klonlarından daha hassas olduğu sonucuna varılmıştır.^{14,15} ER reseptörünün CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruyla IHC bazı saptaması, meme karsinomuna yönelik hormon tedavisinin yönetimi, prognozu ve tahmininde yardımcı olarak kullanılabilir.

PROSEDÜR PRENSİBİ

CONFIRM anti-ER (SP1) antikor, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü (FFPE) doku kesitlerinde ER reseptörüne bağlanır. Spesifik antikor, tavşan immüno globulinlerini tanıyan biyotin konjuge sekonder antikor formülasyonunun ardından streptavidin yaban turbu peroksidazı (HRP) konjugatı (VIEW DAB Detection Kit) veya ikincil bir antikor HRP konjugatı (ultraView Universal DAB Detection Kit) eklenmesiyle lokalize edilebilir. Spesifik antikor-enzim kompleksi, daha sonra bir çökelme enzim reaksiyon ürünüyle görselleştirilir. Klinik vakalar, uygun kontrollerin performansı bağlamında değerlendirilmelidir. Ventana, hasta numunesiyle aynı şekilde sabitlenen ve işlenen bir pozitif doku kontrolünün eklenmesini önerir (örneğin, zayıf pozitif bir meme karsinomu veya uterus). CONFIRM anti-ER (SP1) antikorla boyamaya ek olarak, ikinci bir slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig ile boyanmalıdır. Testin geçerli sayılabilmesi için pozitif kontrol dokusu, tümör hücreleri veya uterus bezleri ve stromada nükleer boyama sergilemelidir. Bu bileşenler, CONFIRM Negative Control Rabbit Ig ile boyandığında negatif olmalıdır. Buna ek olarak, bir negatif doku kontrolü slaytının (örneğin, bir ER negatif meme karsinomu) işlenen her örnek partisi için eklenmesi ve bir BenchMark IHC/ISH cihazında çalıştırılması önerilir. Bu negatif doku kontrolü, antijen artırma ve diğer ön tedavi prosedürlerinin yanlış pozitif boyama oluşturmamasından emin olmak için CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna eklenmelidir.

ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN MALZEME

CONFIRM anti-ER (SP1) antikor (Kat. No. 790-4324), 50 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 5 mL'lik CONFIRM anti-ER (SP1) antikor dağıtıcısı, insan ER antijenini hedefleyen yaklaşık 5 µg tavşan monoklonal antikoruna içerir.

CONFIRM anti-ER (SP1) antikor (Kat. No. 790-4325), 250 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 25 mL'lik CONFIRM anti-ER (SP1) antikor dağıtıcısı, insan ER antijenini hedefleyen yaklaşık 25 µg tavşan monoklonal antikoruna içerir.

Antikor, taşıyıcı protein ve bir koruyucu olan %0.10 ProClin 300 içeren Tris-HCl içinde seyretilir. Stok çözeltisinden Amerika Birleşik Devletleri orijinli bir fetal buzağı serumu izi (~%0.2) bulunmaktadır.

Spesifik antikor konsantrasyonu yaklaşık 1 µg/mL'dir. Bu üründe bilinen spesifik olmayan herhangi bir antikor reaktivitesi yoktur.

CONFIRM anti-ER (SP1) antikor, hücre kültürü üst fazı olarak üretilen bir tavşan monoklonal antikorudur.

Şu konularda ayrıntılı açıklamalar için uygun VENTANA saptama kiti yöntem tablosuna bakın: Prosedür Prensibi, Materyal ve Metotlar, Numune Toplama ve Analiz için Hazırlama, Kalite Kontrol Prosedürleri, Sorun Giderme, Sonuçların Yorumlanması ve Kısıtlamalar.

GEREKİLİ OLAN FAKAT ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER

VENTANA saptama kitleri gibi boyama reaktifleri ve negatif ve pozitif doku kontrol slaytlarını da içeren yardımcı bileşenler ürünle birlikte verilmemektedir.

Yöntem tablosunda listelenen ürünlerin hepsi tüm bölgelerde mevcut olmayabilir. Yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

Aşağıda yer alan reaktifler ve malzemeler boyama için gerekli olabilir fakat ürünle birlikte verilmez:

1. Önerilen kontrol dokusu
2. Mikroskop slaytları, pozitif yüklü
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (Kat. No. 760-1029 / 05266238001)
4. ultraView Universal DAB Detection Kit (Kat. No. 760-500 / 05269806001)
5. VIEW DAB Detection Kit (Kat. No. 760-091 / 05266157001)
6. A/B Block (Endogenous Biotin Blocking Kit) (Kat. No. 760-050 / 05266092001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (Kat. No. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Kat. No. 950-300 / 05353955001)

9. LCS (Predilute) (Kat. No. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (Kat. No. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (Kat. No. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Kat. No. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (Kat. No. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (Kat. No. 760-2037 / 05266769001)
15. BenchMark IHC/ISH cihazı
16. Genel amaçlı laboratuvar ekipmanı

SAKLAMA VE STABİLİTE

Alındıktan sonra ve kullanmadığınız zamanlarda 2-8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Reaktifin uygun bir şekilde uygulandığından ve antikor stabilitesinden emin olmak için dağıtıcı kapağını her kullanımdan sonra yerine takın ve dağıtıcıyı derhal soğutucuya dikey konumda yerleştirin.

Her antikor dağıtıcının bir son kullanma tarihi vardır. Düzgün bir şekilde saklanması halinde, reaktif etikette belirtilen tarihe kadar stabil kalır. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

NUMUNE HAZIRLAMA

Rutin olarak işlenen FFPE dokular, VENTANA saptama kitleri ve BenchMark IHC/ISH cihazları ile birlikte kullanıldığında bu primer antikorla kullanım için uygundur. Numunelerin işlenmesi için aşağıdaki adımlar önerilir:¹⁶

1. Numuneyi %10'luk nötr tamponlu formalin içine koyun. Kullanılan miktar, doku hacminin 15 ila 20 katıdır. Hiçbir sabitleyici, solid dokunun 2 ila 3 mm'sinden fazlasına veya gözenekli dokunun 5 mm'den fazlasına 24 saatlik bir sürede nüfuz etmeyecektir. Dokunun 3 mm'lik veya daha küçük bir kesiti 4 saatten kısa ve 8 saatten uzun süreyle olmamak üzere sabitlemelidir. Fiksasyon oda sıcaklığında (15-25 °C) gerçekleştirilebilir.
2. Fiksasyondan sonra numune, gece boyu hazırlık için bir doku işleme cihazına yerleştirilir. Kısacası bu işlem, numunenin alkoller ile dehidrasyonundan, ardından alkoller gidermek için temizlik reaktiflerinin kullanımından ve son olarak parafin ile infiltrasyondan oluşur.
3. Örnekler doku kasetleri içinde parafine gömülür ve yaklaşık 4 µm kalınlığında kesitler kesilir, ortaları ve cam slaytlar üzerine konur. Slaytlar Superfrost Plus veya muadili olmalıdır. Doku, slaytlar gece boyu ortam sıcaklığında bırakılarak havada kurutulmalı veya 30 dakika boyunca 60 ° C sıcaklığındaki bir fırına konmalıdır.

Kesilmiş doku kesitlerinin antijenisitesi zaman geçtikçe azalacağı için, slaytlar hemen boyanmalıdır.

Pozitif ve negatif doku kontrollerinin bilinmeyen numunelerle eş zamanlı olarak çalışılması önerilir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. İn vitro diagnostik (IVD) kullanımı yöneliktir.
2. Sadece profesyonel kullanım içindir.
3. **DİKKAT:** Amerika Birleşik Devletleri'nde, Federal yasa bu cihazın satışını bir doktora veya doktor siparişiyle yapılacak şekilde sınırlamaktadır. (Rx Only)
4. Belirtilen test sayısının üzerinde kullanmayın.
5. ProCin 300 çözeltisi, bu reaktifte koruyucu olarak kullanılmıştır. Tahrir edici olarak sınıflandırılmıştır ve deriyle temas ettiğinde hassasiyete yol açabilir. Kullanırken uygun önlemleri alın. Reaktiflerin göz, deri ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Koruyucu giysi ve eldiven kullanın.
6. Pozitif yüklü slaytlar, uygun olmayan boyamaya yol açan çevresel streslere yatkın olabilir. Bu tür slaytların kullanımı hakkında daha fazla bilgi almak için Roche temsilcinize danışın.
7. Bu ürün, antikor üretiminde kullanılan %1 veya daha az oranda bovin serumu içerir.
8. İnsan veya hayvan kaynaklı materyaller, biyoteknik materyaller oldukları varsayılarak kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak atılmalıdır. Maruz kalma durumunda, sorumlu otoritelerin sağlık direktifleri izlenmelidir.^{17,18}
9. Reaktiflerin göz ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Reaktifler hassas bölgelerle temas ederse bu bölgeleri bol suyla yıkayın.
10. Yanlış sonuçlar alınmasına neden olabileceği için reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmasını önleyin.
11. Bu cihazın kullanımı hakkında daha fazla bilgi için BenchMark IHC/ISH cihazı Kullanıcı Kılavuzuna ve tüm gerekli bileşenlerin dialog.roche.com adresinde bulunan kullanım talimatlarına bakın.

12. Önerilen imha yöntemleri hakkında bilgi almak için yerel ve/veya resmi kurumlara danışın.
13. Ürün güvenliği etiketi, öncelikli olarak EU GHS yönergelerini izler. Güvenlik bilgi formu profesyonel kullanıcı için talep üzerine temin edilir.
14. Bu cihazla ilgili şüphelenilen ciddi olayları raporlamak için yerel Roche temsilcisi ve kullanıcının bulunduğu Üye Devlet veya Ülkenin yetkili makamıyla iletişime geçin.

Bu ürün, Düzenleme (EC) No. 1272/2008 uyarınca aşağıdaki şekilde sınıflandırılan bileşenler içermektedir:

Tablo 1. Tehlike bilgileri.

Tehlike	Kod	Beyan
	H317	Alerjik deri reaksiyonuna yol açabilir.
	H412	Uzun süreli etkilere su yaşamı için zararlıdır.
	P261	Sis veya buharı solumaktan kaçının.
	P273	Çevreye salınımından kaçının.
	P280	Koruyucu eldiven takın.
	P333 + P313	Deride tahriş veya kızarıklık meydana gelirse tıbbi tavsiye/yardım alın.
	P362 + P364	Kirlenmiş giysilerinizi çıkarın ve yeniden kullanmadan önce yıkayın.
	P501	İçeriği/kabı uygun bir atık imha tesisine atın.

Bu ürün CAS No. 55965-84-9 içerir, reaksiyon kütlesi: 5-kloro-2-metil-2H-izotiazol-3-on ve 2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1).

BOYAMA PROSEDÜRÜ

VENTANA primer antikorları, VENTANA saptama kitleri ve aksesuarlarıyla birlikte BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Önerilen boyama protokolleri için bkz. Tablo 2 ve Tablo 3.

Bu antikor spesifik inkübasyon süreleri için optimize edilmiştir ancak kullanıcı reaktifle elde edilen sonuçları doğrulamalıdır.

Otomatik prosedürlere ilişkin parametreler, cihazın Kullanıcı Kılavuzundaki prosedüre göre görüntülenebilir, yazdırılabilir ve düzenlenebilir. IHC boyama prosedürleriyle ilgili ayrıntılı bilgi için ilgili VENTANA saptama kiti yöntem tablosuna bakın.

Bu cihazın uygun kullanımına ilişkin ayrıntılar için P/N 790-4324 veya P/N 790-4325 ile ilişkin olarak iç hat dağıtıcı yöntem tablosuna bakın.

Her bir saptama kiti için önerilen boyama prosedürünün doğrulama ve onayı, tasarım kontrol testleri ve klinik çalışmaların sonuçları aracılığıyla ortaya konmaktadır.

Önerilen boyama prosedürü üzerinde yapılan her türlü değişiklik, bu yöntem tablosunda sunulan Performans Özelliklerini geçersiz kılar. Kullanıcı, önerilen boyama prosedürü üzerinde yapılan her türlü değişikliğin sorumluluğunu üstlenmelidir.

Tablo 2. BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde ultraView Universal DAB Detection Kit kullanılarak CONFIRM anti-ER (SP1) antikorı için önerilen boyama protokolleri.

Prosedür Tipi	Yöntem	
	XT	ULTRA veya ULTRA PLUS
Deparafinizasyon	Seçili	Seçili
Hücre İyileştirme (Antijen Ortaya Çıkarma)	CC1, Standart	ULTRA CC1, Standart
Antikor (Primer)	16 dakika, 37 °C	16 dakika, 36 °C
Karşıt Boya	Hematoxylin II, 4 dakika	Hematoxylin II, 4 dakika
Karşıt Boyama Sonrası	Bluing, 4 dakika	Bluing, 4 dakika

Tablo 3. BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde /VIEW DAB Detection Kit kullanılarak CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna için önerilen boyama protokolleri

Prosedür Tipi	Yöntem	
	XT	ULTRA
Deparafinizasyon	Seçili	Seçili
Hücre İyileştirme (Antijen Ortaya Çıkarma)	CC1, Standart	ULTRA CC1, Standart
Antikor (Primer)	16 dakika, 37 °C	16 dakika, 36 °C
A/B Blok (Biyotin Bloklama)	Gerekli	Gerekli
Karşıt Boya	Hematoxylin II, 4 dakika	Hematoxylin II, 4 dakika
Karşıt Boyama Sonrası	Bluing, 4 dakika	Bluing, 4 dakika

Genel laboratuvar cihazları ve çevresel koşulların yanı sıra doku fiksasyonu ve işlemindeki değişkenlikler nedeniyle bağımsız numunelere, kullanılan saptama kitine ve okuyucu tercihlerine bağlı olarak, primer antikor inkübasyonu, hücre iyileştirme veya proteaz ön işleme sürelerinin artırılması veya azaltılması gerekebilir. Fiksasyon değişkenleri hakkında daha fazla bilgi için, bkz. "Immunohistochemistry Principles and Advances."¹⁹

POZİTİF DOKU KONTROLÜ

Her boyama işlemine bir pozitif doku kontrolü dahil edilmelidir. College of American Pathologists, hasta slaytında bir pozitif doku kontrolü bulunmasını önermektedir.¹³ CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna ile pozitif kontrol olarak kullanılacak dokuların bir örneği de, zayıf pozitif meme kansinomudur. Pozitif boyama hücreleri veya doku bileşenleri (tümör hücrelerinin nükleer boyaması), CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun uygulandığını ve cihazın düzgün çalıştığını doğrulamak için kullanılır. Bu doku, hem pozitif hem de negatif boyama hücre veya doku bileşenleri içerebilir ve hem pozitif hem de negatif kontrol dokusu görevi görebilir. Kontrol dokuları, test kesitleriyle aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede hazırlanmış veya sabitlenmiş taze otopsi, biyopsi numunesi veya cerrahi numuneler olmalıdır. Bu gibi dokular, doku hazırlığından boyamaya kadar prosedürün tüm adımlarını izleyebilir. Test numunesinden farklı şekilde sabitlenmiş veya işlenmiş bir doku kesitinin kullanılması, tüm reaktifler ve fiksasyon ile doku işleme hariç yöntem adımları için kontrol sağlar.

Optimum kalite kontrol sağlamak ve ufak düzeyde reaktif bozulmalarını saptamak için, zayıf pozitif boyamalı bir doku, güçlü pozitif boyamalı bir dokudan daha uygundur. Sistemin az miktarda reaktif bozulmasına veya IHC metodolojisindeki sorunlara karşı duyarlı olduğundan emin olmak için ideal olarak, zayıf ancak pozitif boyamalı olduğu bilinen bir meme kansinomu dokusu tercih edilmelidir.

Alternatif olarak, pozitif kontrol olarak normal insan proliferatif endometriyumu kullanılabilir. Pozitif boyama bileşenleri; glandüler epitellerin ve stromal ve düz kas hücrelerinin nükleer boyamasıdır. Bununla birlikte endometriyal doku, az miktarda reaktif bozulmaları veya IHC metodolojisi ile ilgili sorunları saptamak için yeterince zayıf düzeyde boyanmayabilir.

Uygun laboratuvar uygulamaları, test dokusuyla aynı slayt üzerinde pozitif kontrol kesiti içermektedir. Bu, slayta reaktif uygulamadaki hataları belirlemeye yardımcı olur. Pozitif boyaması zayıf doku, kalite kontrol açısından en uygun olmalıdır.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta örneklerinin spesifik teşhisinin belirlenmesinde bir yardımcı olarak değil, yalnızca işlenen dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama ortaya koymazsa test numuneleri sonuçları geçersiz sayılmalıdır.

NEGATİF DOKU KONTROLÜ

ER gösterimi ve spesifik arka plan boyamasına (yanlış pozitif boyama) dair bir gösterge sağlamak için CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun spesifitesini doğrulamak üzere, her bir boyama işleminde, hasta örnekleriyle aynı şekilde sabitlendiği, işlendiği ve gömüldüğü bilinen bir doku kontrolü kullanın. Ayrıca, CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun performans özelliklerini doğrulamak için, dahili negatif kontrol olarak çoğu doku kesitinde bulunan çeşitli farklı hücre türleri de kullanılabilir. Örneğin, pozitif doku kontrolü için kullanılan dokunun aynısı (endometriyum) negatif doku kontrolü olarak kullanılabilir. Boyanmayan bileşenler (sitoplazma, hücre zarı), boyanması beklenmeyen hücrelerde

spesifik boyamanın yokluğunu göstermeli ve spesifik arka plan boyamasına dair bir gösterge sağlamalıdır. Negatif doku kontrolü sonuçların yorumlanmasında yardımcı olarak da kullanılmalıdır. Çoğu doku kesitinde bulunan farklı hücre türleri, negatif kontrol bölgeleri sağlar ancak bu, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Negatif doku kontrolü bölgelerinde, spesifik boyamanın gerçekleşmesi durumunda hasta numunelerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

NEGATİF REAKTİF KONTROLÜ

Her numune için sonuçların yorumlanmasına yardımcı olacak bir negatif reaktif kontrolü çalıştırılmalıdır. Negatif reaktif kontrolü, non-spesifik boyamayı değerlendirmek ve antijen bölgesinde spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasını sağlamak adına primer antikor yerine kullanılır. Bu, her bir slayt için non-spesifik arka plan boyamasına dair bir gösterge sağlar. Primer antikor yerine, slayt, insan numuneleriyle reaksiyona girmeyen saflaştırılmış, immün olmayan bir tavşan IgG antikoruna olan CONFIRM Negative Control Rabbit Ig ile boyayın. Alternatif bir negatif reaktif kontrolü kullanılıyorsa Antibody Diluent kullanarak, primer antikor antiserumu ile aynı oranda seyreltin. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunda yaklaşık %0.2 fetal buzağı serumu tutulur. Spesifik olmayan negatif reaktif kontrolü olarak kullanım için Antibody Diluent içine %0.2 oranında fetal buzağı serumu eklenmesi de uygundur. Negatif reaktif kontrolü için inkübasyon süresi, primer antikora eşit olmalıdır.

Seri kesitlerde birçok antikordan oluşan paneller kullanıldığında, bir slayttaki negatif reaktif kontrolü, diğer antikorlar için negatif veya spesifik olmayan bağlayıcı bir arka plan kontrolü görevi görebilir.

TAYİN DOĞRULAMASI

Bu antikorun bir diagnostik prosedürde ilk kullanımından önce veya lot numarasında bir değişiklik olması halinde, antikorun spesifitesi, performans özellikleri bilinen bir dizi pozitif ve negatif doku boyanarak doğrulanmalıdır. Ürün prospektüsünün bu bölümünde önceden ana hatlarıyla açıklanan kalite kontrol prosedürlerine ve College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist veya CLSI Approved Guideline ya da her iki belgede belirtilen kalite kontrol tavsiyelerine bakın.^{20,21} Bu kalite kontrol prosedürleri, her yeni antikor lotu için veya eşleşen bir sette bulunan reaktiflerin birinde lot numarası değişikliği veya tayin parametrelerinde değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Kalite kontrolü, izolasyon halindeki aynı bir reaktif üzerinde anlamlı bir şekilde yapılamaz çünkü bir kit teşhis amacıyla kullanılmadan önce, eşleşen reaktifler, tanımlı bir tayin protokolüyle birlikte bir arada test edilmelidir. Beklenen Sonuçların Özeti kısmında listelenen dokular, tayin doğrulaması için uygundur.

Tüm kalite kontrol gereklilikleri, yerel, eyalet ve federal düzenlemeler veya akreditasyon gereklilikleri doğrultusunda yerine getirilmelidir.

BOYAMA YORUMLARI / BEKLENEN SONUÇLAR

VENTANA otomatik immünoboyama prosedürü, CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde çökecek renkli bir reaksiyon ürününe neden olur. İmmünohistokimya prosedürlerinde deneyimli bir uzman patolog, sonuçların yorumlanmasından önce pozitif ve negatif kontrolleri ve boyanmış ürünü değerlendirmelidir. Östrojen reseptörünün durumu, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesine göre belirlenir. Tümör hücrelerinin %1'i veya daha fazlasında çekirdekte boyanma varsa vakanın ER pozitif olduğu kabul edilir.¹³ Stroma ve lenfositlerde spesifik boyama gözlemlenebilir. Bu slaytlar skorlanırken yalnızca tümör hücrelerindeki nükleer boyamanın dikkate alınması zorunludur.

Pozitif Doku Kontrolü

Tüm reaktiflerin düzgün çalıştığından emin olmak için öncelikle CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna ile boyanan pozitif doku kontrolü incelenmelidir. Hedef hücrelerin çekirdeklerinde kahverengi (3,3' diaminobenzidin tetraکلرür, DAB) reaksiyon ürününün varlığı, pozitif reaktivitenin göstergesidir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak dokulara bir örnek de, bilinen bir zayıf pozitif meme kansinomudur (örn. içindeki tümör hücrelerinin çekirdeklerinde pozitif olması gereken $\geq 1\%$). Normal insan endometriyumu da kullanılabilir. Normal endometriyuma ER boyaması, endometriyal bezlerin ve stromanın çekirdeklerinde görülür. Pozitif doku kontrolleri uygun pozitif boyama ortaya koymazsa test numunelerinin sonuçları geçersiz sayılmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü

Negatif doku kontrolü, hedef antijenin primer antikor tarafından spesifik etiketlenmesini doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın bulunmaması, hücreler veya selüler bileşenlerde antikor çapraz reaksiyonunun yokluğunu doğrular. Pozitif kontrol olarak kullanılan meme kansinomu, negatif kontrol dokusu olarak da kullanılabilir. Endotelial hücreler gibi ER negatif olduğu

bilinen belirli stromal öğeler, nükleer boyama göstermemelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın gerçekleşmesi durumunda hasta numunesinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Mevcutsa non-spesifik boyama dağınık bir görünüme sahiptir. Formalinle aşırı miktarda sabitlenmiş doku kesitlerinde, bağ dokusunda sporadik hafif boyama da gözlemlenebilir. Nekrotik veya dejenere hücreler genellikle non-spesifik boyandı için boyama sonuçlarını yorumlarken intakt hücreler kullanılmalıdır.²²

Hasta Dokusu

CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunu ile boyanmış hasta numuneleri en son incelenmelidir. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün herhangi bir non-spesifik arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. ER, over ve endometriyum kanserleri gibi başka neoplazmalar arasında saptanabilir.¹³ Herhangi bir immünohistokimyasal sonucu yorumlarken, her bir doku örneğinin morfolojisi, ayrıca hematoksilin ve eozin boyalı bir kesit kullanılarak da incelenmelidir. Hastanın morfolojik bulguları ve ilgili klinik verileri uzman bir patolog tarafından yorumlanmalıdır. İmmünreaktivite hakkında spesifik bilgiler için Özet ve Açıklama, Kısıtlamalar ve Beklenen Sonuçların Özeti kısımlarına bakın.

KISITLAMALAR

Genel Kısıtlamalar

1. IHC, uygun reaktiflerin ve dokuların seçimi, fiksasyon, işleme, immünohistokimya slaytının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması konusunda özel eğitim gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir.
2. Doku boyaması, dokunun boyanmadan önceki kullanımı ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit çıkarma veya başka doku ya da sıvılarla kontaminasyon, artefaktlara, antikor hapsolmesine veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıkların veya doku içindeki yapısal düzensizliklerin bir sonucu olabilir.
3. Aşırı veya eksik karşıt boyama, sonuçların uygun şekilde yorumlanmasına engel olabilir.
4. Herhangi bir pozitif boyamanın veya pozitif boyama bulunmamasının klinik yorumlaması, klinik geçmiş, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında değerlendirilmelidir. Her türlü boyamanın veya boyama bulunmamasının klinik yorumlaması, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerin yanı sıra başka diagnostik testler ile tamamlanmalıdır. Bu antikor, bir antikor panelinde kullanıma yöneliktir. Boyalı preparatı hazırlamak için kullanılan antikorlar, reaktifler ve yöntemlere aşina olmak, uzman patoloğun sorumluluğundadır. Boyama, sertifikalı ve ruhsatlı bir laboratuvar, boyalı slaytların incelenmesinden ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini sağlamaktan sorumlu bir patolog gözetiminde gerçekleştirilmelidir.
5. Ventana, verilen talimatlar izlendiğinde, kullanım için en uygun seyreltme oranında antikorlar ve reaktifler sağlar. Önerilen test prosedürlerinden her türlü sapma, beklenen sonuçları geçersiz kılabilir. Uygun kontroller kullanılmalı ve belgelenmelidir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanmasına ilişkin sorumluluğu kabul etmelidir.
6. Bu ürün, akış sitometrisinde kullanıma yönelik değildir; performans özellikleri belirlenmemiştir.
7. Reaktifler, önceden test edilmemiş dokularda beklenmedik reaksiyonlar sergileyebilir. Neoplazmalardaki antijen ekspresyonunun veya diğer patolojik dokuların biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilmiş doku gruplarında dahi, beklenmeyen reaksiyon görülmeye olasıdır; tamamen elimine edilemez.²² Beklenmeyen reaksiyonları belgeleyerek yerel destek temsilciniz ile iletişime geçin.
8. Hepatit B virüsü ile enfekte olan kişilerden alınan ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren dokular, yaban turbu peroksidadı ile non-spesifik boyama sergileyebilir.²³
9. Bloklama adımlarında kullanıldığında, sekonder antiserum ile aynı hayvansal kaynaktan elde edilen normal serum, otoantikorlar veya doğal antikorlar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
10. Yanlış pozitif sonuçlar, proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin nonimmünojenik bağlanması nedeniyle görülebilir. Bunlar, kullanılan immünoboyanın tipine bağlı olarak, psödo-peroksidad aktivitesi (eritrositler), endojen peroksidad aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biyotinden de (örneğin: karaciğer, beyin, meme, böbrek) kaynaklanabilir.²⁴
11. Her IHC testinde olduğu gibi negatif bir sonuç, antijenin test edilen hücrelerde veya dokularda bulunmadığı değil, antijenin saptanamadığı anlamına gelir.

ÖZEL KISITLAMALAR

1. Antikor, VENTANA saptama kitleri ve aksesuarları ile birlikte, formalin fiksasyonu, doku işleme ve kesit çıkarma sonrasında kalan antijeni saptar. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanması ve onaylanmasından sorumludur.
2. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun negatif sonuç vermesi, ER varlığını ihtimal dışı bırakmaz. Meme kanserinde görülen negatif reaksiyonlar, antijen ekspresyonunun kaybolmasından veya ekspresyonda belirgin bir azalmadan kaynaklı olabilir. Dolayısıyla, bu antikoru, progesteron reseptörü içeren antikorlardan oluşan bir panelde kullanılması önerilir.
3. Tüm testler her cihaz üzerinde kayıtlı olmayabilir. Daha fazla bilgi için lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

ANALİTİK PERFORMANS

Spesifite, hassasiyet ve kesinlikle ilgili boyama testleri yürütülmüştür ve sonuçları aşağıda listelenmiştir.

Hassasiyet ve Spesifite

CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun immünreaktivitesi, normal insan dokularından oluşan birden fazla vakanın boyanmasıyla belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4 içinde listelenmiştir.

Tablo 4. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun hassasiyeti/spesifitesi, FFPE dokuların test edilmesiyle belirlenmiştir.

Doku	Pozitif/toplam vaka sayısı	Doku	Pozitif/toplam vaka sayısı
Serebrum	0/5	Özofagus	0/3
Serebellum	0/3	Mide	0/3
Adrenal bez	0/3	İnce bağırsak	0/3
Yumurtalık	1/3	Kolon	0/3
Pankreas	0/3	Karaciğer	0/3
Paratiroid bezi	0/4	Tükürük bezi	0/3
Hipofiz bezi	3/3	Böbrek	0/3
Testis	0/3	Prostat	2/3
Tiroit	1/5	Mesane	0/5
Meme ^a	12/12	Endometriyum	3/3
Dalak	0/3	Rahim boynu	1/3
Bademcik	1/3	İskelet kası	0/3
Timüs	0/3	Deri ^b	0/5
Kemik iliği	0/3	Sinir	0/3
Akciğer	0/3	Mezotelyum	0/3
Kalp	0/3		

^a Doku fibro yağlı dokuyu içerir.

^b Doku meme ucunu içerir.

CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun immünreaktivitesi, neoplastik insan dokularından oluşan birden fazla vakanın boyanmasıyla belirlenmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az $\geq 1\%$ 'inde çekirdekte boyama görülen vakalar ER pozitif olarak kabul edilmiştir.¹³ Sonuçlar Tablo 5 içinde listelenmektedir.

Tablo 5. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun hassasiyeti/spesifitesi, çeşitli FFPE neoplastik dokuların test edilmesiyle belirlenmiştir.

Patoloji	Pozitif/toplam vaka sayısı
Gliyoblastom (Serebrum)	0/1
Menenjiyom (Serebrum)	0/1
Ependimom (Serebrum)	0/1
Oligodendrogliom (Serebellum)	0/1
Seröz adenokarsinom (Yumurtalık)	0/1
Müsinöz adenokarsinom (Yumurtalık)	0/1
Nöroendokrin neoplazma (Pankreas)	0/1
Adenokarsinom (Pankreas)	0/1
Seminom (Testis)	0/1
Embriyonal karsinom (Testis)	0/1
Medüller karsinom (Tiroit)	0/1
Papiller karsinom (Tiroit)	0/1
İn situ duktal karsinom (Meme)	1/3
İnvaziv duktal karsinom (Meme)	9/20
İnvaziv lobüler karsinom (Meme)	2/3
Medüller karsinom (Meme)	0/1
Papiller karsinom (Meme)	1/1
Meme karsinomu (Metastatik)	0/5
B hücreli lenfoma; NOS (Dalak)	0/1
Küçük hücreli karsinom (Akciğer)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Akciğer)	0/1
Adenokarsinom (Akciğer)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Özofagus)	0/1
Adenokarsinom (Özofagus)	0/1
Müsinöz adenokarsinom (Mide)	0/1
Adenokarsinom (Bağırsak)	0/1
Malign karışık mezenkimal neoplazma (İnce bağırsak)	0/1
Adenokarsinom (Kolon)	0/1
Malign karışık mezenkimal neoplazma (Kolon)	0/1
Adenokarsinom (Rektum)	0/1
Malign karışık mezenkimal neoplazma (Rektum)	0/1
Melanom (Rektum)	0/1
Hepatoselüler karsinom (Karaciğer)	0/1
Hepatoblastom (Karaciğer)	0/1
Berrak hücreli karsinom (Böbrek)	0/1
Adenokarsinom (Prostat)	1/1

Patoloji	Pozitif/toplam vaka sayısı
Ürotelyal karsinom (Prostatik üretra)	1/1
Leyomiyom (Rahim)	1/1
Adenokarsinom (Rahim)	2/2
Berrak hücreli karsinom (Rahim)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Rahim boynu)	0/1
Embriyonal rabdomiyosarkom (Çizgili kas)	0/1
Bazal hücreli karsinom (Deri)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Çizgili kas)	0/1
Nörofibrom (Mediastin)	0/1
Nöroblastom (Retroperiton)	0/1
İğ hücreli rabdomiyosarkom (Retroperiton)	0/1
Mezotelyom (Periton)	0/1
Hodgkin lenfoma (Lenf düğümü)	0/1
Lenfoma; NOS (Lenf düğümü)	0/2
B hücreli lenfoma, NOS (Lenf düğümü)	0/1
Ürotelyal karsinom (Mesane)	0/1
Osteosarkom (Kemik)	0/1
Leyomiyosarkom (Düz kas)	0/1

Hassasiyet, antijenin korunmasına bağlıdır. Fiksasyon, kesit çıkarma, gömme veya saklama sırasında, antijenisiteyi değiştiren her türlü uygunsuz doku kullanımı, CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ile ER saptamasını olumsuz yönde etkiler ve yanlış negatif sonuçlara neden olabilir.

BenchMark XT ve BenchMark ULTRA Cihaz Kesinliği

Kesinlik testinin bir parçası olarak altı ayrı doku boyanmıştır. Altı dokudan iki tanesinde yüksek ER ekspresyonu, iki tanesinde düşük ER ekspresyonu görülmüş ve iki tanesi, düşük ekspresyon için %1-10 ve yüksek ekspresyon için > %10 olmak üzere, negatif için < %1'lik bir tümör hücresi boyama kesme noktasına dayalı olarak ER negatif olmuştur.

İşlem içi tekrarlanabilirlik testi için, bir BenchMark XT cihazında, her vakadan 9 slayt CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ile boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoru ile boyanmıştır. Aynı test konfigürasyonu bir BenchMark ULTRA cihazında da uygulanmıştır. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun hem BenchMark XT hem de BenchMark ULTRA cihazlarındaki işlem içi tekrarlanabilirliği, altı vakadaki pozitif dokuların tümü için %100 uyum sergilemiştir. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar, sinyal ve arka plan için kabul edilebilir olmuştur.

Günler arası ara kesinlik testi için, aynı BenchMark XT cihazında, 20 günlük bir süre içinde, ardışık olmayan beş ayrı çalışma halinde her vakadan dört slayt CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ile boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoru ile boyanmıştır. Aynı test konfigürasyonu bir BenchMark ULTRA cihazında da uygulanmıştır. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun hem BenchMark XT hem de BenchMark ULTRA cihazlarındaki günler arası ara kesinliği, altı vakadaki pozitif dokuların tümü için %100 uyum sergilemiştir. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar, sinyal ve arka plan için kabul edilebilir olmuştur.

BenchMark XT cihazlar arası ara kesinlik testi için altı vakadan 4 slayt, üç ayrı BenchMark XT cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ile boyanmıştır. Her bir vakadan tek bir slayt, CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoru ile boyanmıştır. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun üç BenchMark XT cihazındaki cihazlar arası ara kesinliği, altı vakadan tümünde %100 uyum sergilemiştir. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar, sinyal ve arka plan için kabul edilebilir olmuştur.

BenchMark ULTRA cihazlar arası ara kesinlik testi için altı vakadan 4 slayt, üç ayrı BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna boyanmıştır. Her bir vakadan tek bir slayt, CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna boyanmıştır. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun üç BenchMark ULTRA cihazındaki cihazlar arası ara kesinliği, altı vakadan tümünde %100 uyum sergilemiştir. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar, sinyal ve arka plan için kabul edilebilir olmuştur.

BenchMark ULTRA PLUS Cihazı Kesinliği

Kesinlik testinin bir parçası olarak dokuz ayrı doku boyanmıştır. Dokuz dokudan üç tanesinde yüksek ER ekspresyonu, üç tanesinde düşük ER ekspresyonu görülmüş ve üç tanesi, düşük ekspresyon için %1-10 ve yüksek ekspresyon için > %10 olmak üzere, negatif için < %1'lik bir tümör hücresi boyama kesme noktasına dayalı olarak ER negatif olmuştur.

İşlem içi tekrarlanabilirlik testi için, bir BenchMark ULTRA PLUS cihazında, her vakadan beş slayt CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna boyanmıştır. BenchMark ULTRA PLUS cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun işlem içi tekrarlanabilirliği %100 uyumlu olmuştur. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar, sinyal ve arka plan için kabul edilebilir olmuştur.

Günler arası ara kesinlik testi için, aynı BenchMark ULTRA PLUS cihazında, 20 günlük bir süre içinde, ardışık olmayan beş ayrı çalışma halinde her vakadan iki slayt CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna boyanmıştır. CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun BenchMark ULTRA PLUS cihazındaki günler arası ara kesinliği, %100 uyum sergilemiştir. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar, sinyal ve arka plan için kabul edilebilir olmuştur.

BenchMark ULTRA PLUS cihazlar arası ara kesinlik testi için her bir vakadan iki slayt, üç ayrı BenchMark ULTRA PLUS cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoruna boyanmıştır. Her bir vakadan tek bir slayt, CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna boyanmıştır. Üç BenchMark ULTRA PLUS cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun cihazlar arası ara kesinliği, %100 uyum sergilemiştir.

Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik

CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru için 14 meme kanseri slayt (8 pozitif, 2 düşük pozitif, 4 negatif) işlemi kullanılarak, 3 BenchMark XT cihazında ve 3 BenchMark ULTRA cihazında, IVIEW DAB saptaması ve ultraView DAB saptaması kullanılarak, 3 harici laboratuvarında minimum 20 günlük bir süre boyunca, ardışık olmayan 5 günün her birinde bir Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik çalışması gerçekleştirilmiştir. Numuneler boyalı tümör hücresi yüzdesi için toplam 6 patoloj (tesis başına 2 patoloj) tarafından randomize edilmiş ve değerlendirilmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az %1'inde çekirdekte boyama görülen vakalar ER pozitif olarak kabul edilmiştir.¹³

Tesisler Arası kesinlik için, CONFIRM anti-ER (SP1) antikor klinik değerlendirmesi için ortalama pozitif uyum (APA) ve ortalama negatif uyum (ANA) oranları, IVIEW saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %94.3 ve %87.9; ultraView saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %94.2 ve %85.8; IVIEW saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %95.6 ve %90.9; ultraView saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %94.2 ve %85.3 olmuştur.

Günler arası kesinlik için, CONFIRM anti-ER (SP1) antikor klinik değerlendirmesi için APA ve ANA oranları, IVIEW saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %97.9 ve %95.5; ultraView saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %98.4 ve %96.2; IVIEW saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %98.0 ve %95.9 ve ultraView saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %98.2 ve %95.5 olmuştur.

Okuyucular Arası kesinlik için, CONFIRM anti-ER (SP1) antikor klinik değerlendirmesi için APA ve ANA, IVIEW saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %95.7 ve %90.9; ultraView saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %94.1 ve %85.7; IVIEW saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %94.9 ve %89.6 ve ultraView saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %93.4 ve %83.6 olmuştur.

BenchMark ULTRA ve BenchMark XT cihazları arasında platformlar arası kesinlik için APA ve ANA oranları, IVIEW saptaması için sırasıyla %97.8 ve %95.5 ve ultraView saptaması için sırasıyla %98.9 ve %97.4 olmuştur.

Platform içi kesinlik için APA ve ANA oranları, BenchMark ULTRA cihazı için sırasıyla %97.9 ve %95.2 ve BenchMark XT cihazı için sırasıyla %97.8 ve %95.0 olmuştur.

CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru kullanılarak IVIEW DAB Detection Kit ve ultraView Universal DAB Detection Kit karşılaştırması

CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru iki cihazda (BenchMark XT ve BenchMark ULTRA cihazları), IVIEW DAB Detection Kit ve ultraView Universal DAB Detection Kit kullanılarak

saptama karşılaştırma testi yapmak üzere kullanılmıştır. Testler kapsamında yüz doksan dokuz (199) doku vakası kullanılmıştır. BenchMark ULTRA cihazı tarafından belirlendiği şekilde, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesinin bir fonksiyonu olarak, değerlendirilebilir vakalardan 111'i pozitif ve 83'ü negatif olmuştur. Boyalı slaytlar, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesini belirleyen patolojlar tarafından değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinin en az %1'inde çekirdekte boyama görülen vakalar ER pozitif olarak kabul edilmiştir.

Morfoloji ve arka plan kabul edilebilirlik oranları, hem saptama kitleri hem de cihazlar için %100 olmuştur. Her cihaz için saptama kitleri arasındaki pozitif ve negatif klinik değerlendirmenin doğrudan karşılaştırmaları, BenchMark ULTRA cihazı için Tablo 6 içinde ve BenchMark XT cihazı için Tablo 7 içinde sunulmaktadır.

Tablo 6. BenchMark ULTRA cihazı ile, ultraView Universal DAB Detection Kit ve IVIEW DAB Detection Kit kitlerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi.

ultraView Universal DAB Detection Kit	VIEW DAB Detection Kit		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	108	3	111
Negatif	3	80	83
Toplam	111	83	194
	n/N	% (%95 CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	108/111	97.3 (92.4-99.1)	
Negatif uyum yüzdesi	80/83	96.4 (89.9-98.8)	
Genel uyum yüzdesi	188/194	96.6 (93.4-98.6)	

Tablo 7. BenchMark XT cihazı ile, ultraView Universal DAB Detection Kit ve IVIEW DAB Detection Kit kitlerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi.

ultraView Universal DAB Detection Kit	VIEW DAB Detection Kit		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	106	5	111
Negatif	2	79	81
Toplam	108	84	192
	n/N	% (%95 CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	106/108	98.1 (93.5-99.5)	
Negatif uyum yüzdesi	79/84	94.0 (86.8-97.4)	
Genel uyum yüzdesi	185/192	96.4 (92.7-98.2)	

Her iki platform için saptama kitleri arasındaki genel değerlendirme uyumları, sırasıyla BenchMark ULTRA ve BenchMark XT cihazları için %96.9 (n=194) ve %96.4 (n=192) olmuştur. ultraView Universal DAB Detection Kit, IVIEW DAB Detection Kit ile karşılaştırıldığında %93.3 (n=194) ve %93.8 (n=192) boyama skoru uyum oranları elde edilmiştir.

BenchMark XT Cihazı ile BenchMark ULTRA Cihazının karşılaştırması

CONFIRM anti-ER (SP1) antikorunun boyama performansını BenchMark ULTRA cihazında ve BenchMark XT cihazında karşılaştırmak için randomize, çok tesisli, çok okuyuculu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Teyinin klinik aralığını temsil eden yüz yirmi (120) ER negatif ve 132 ER pozitif meme kanseri vakası, her tesis eşit sayıda vaka kabul edecek ve her tesis her bir klinik değerlendirme kategorisini temsil eden vakalar kabul edecek şekilde üç çalışma tesisine rastgele olarak atanmıştır. Her tesis kendisine atanmış vakaları bir BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ile ve bir BenchMark XT cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ile boyamıştır. Boyalı slaytlar, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesini belirleyen patolojlar tarafından değerlendirilmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az %1'inde çekirdekte boyama görülen vakalar ER pozitif olarak kabul edilmiştir.¹³

Tablo 8. BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ve BenchMark XT cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru.

BenchMark XT cihazı	BenchMark ULTRA cihazı		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	99	8	107
Negatif	11	91	102
Toplam	110	99	209
	n/N	% (%95 CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	99/107	92.5 (85.9-96.2)	
Negatif uyum yüzdesi	91/102	89.2 (81.7-93.9)	
Genel uyum yüzdesi	190/209	90.9 (86.2-94.1)	

Bu çalışmada boyanan tüm slaytlar için morfoloji kabul edilebilirliği oranları BenchMark ULTRA cihazı için %100 (%95 C.I. %98.5-%100) ve BenchMark XT cihazı için %94.0 (%95 C.I. %90.4-%96.4) olmuştur. Arka plan kabul edilebilirlik oranları BenchMark ULTRA cihazı için %94.8 (%95 C.I. %91.4-%97.0) ve BenchMark XT cihazı için %90.9 (%95 C.I. %86.7-%93.8) olmuştur.

BenchMark ULTRA Cihazı ile BenchMark ULTRA PLUS Cihazının Karşılaştırması

CONFIRM anti-ER (SP1) antikorumun boyama performansını BenchMark ULTRA PLUS cihazında ve BenchMark ULTRA cihazında karşılaştırmak için bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tayinin klinik aralığını temsil eden yüz yirmi (120) meme kansinomu dokusu vakası (54 ER pozitif, 54 ER negatif ve 12 ER sınırda pozitif) boyanmıştır. Boyalı slaytlar, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesini belirleyen patologlar tarafından değerlendirilmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az ≥ 1 'inde çekirdekte boyama görülen bir vaka ER pozitif olarak kabul edilmiştir.¹³ Her bir cihazda boyanan vakalar arasındaki uyum oranları Tablo 9 içinde sunulmuştur.

Tablo 9. BenchMark ULTRA PLUS cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru ve BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru (sınırdaki pozitif vakalar hariç).

BenchMark ULTRA PLUS cihazı	BenchMark ULTRA cihazı		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	53	0	53
Negatif	0	53	53
Toplam	53	53	106
	n/N	% (%95 CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	53/53	100.0 (93.2-100.0)	
Negatif uyum yüzdesi	53/53	100.0 (93.2-100.0)	
Genel uyum yüzdesi	106/106	100.0 (96.5-100.0)	

Bu çalışmada boyanan tüm slaytlar için morfoloji kabul edilebilirliği oranı BenchMark ULTRA PLUS cihazı için %99.2 (%95 C.I. %95.4-%99.9) olmuştur. Arka plan kabul edilebilirlik oranı BenchMark ULTRA PLUS cihazı için %100.0 (%95 C.I. %96.8-%100.0) olmuştur.

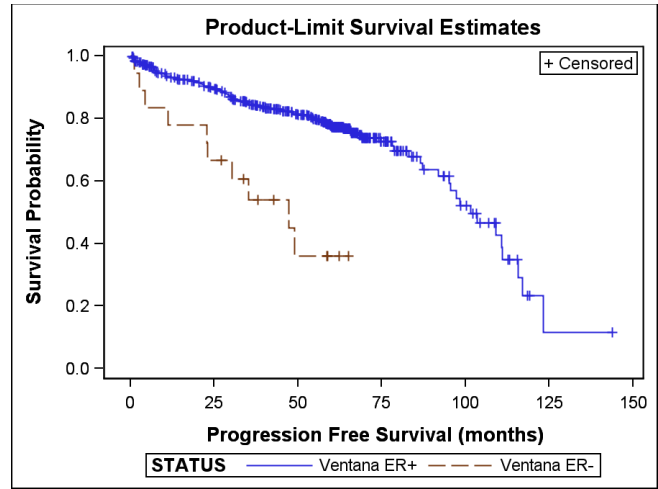
KLİNİK PERFORMANS

Hasta Sonucu ile Karşılaştırma

820 invaziv meme kanseri hastasından oluşan bir klinik kohorttan alınan 511 invaziv meme kanseri vakasından numuneler kullanılarak, randomize, tek tesilli, çok okuyuculu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Hastalar için ilerlemesiz sağkalım sonuçları, BenchMark ULTRA cihazında belirlenen farklı CONFIRM anti-ER (SP1) antikor durumları için karşılaştırılmıştır. Hastanın doğrulanmış bir invaziv meme kansinomu teşhisi varsa ve postoperatif lokal radyasyon tedavisi ile veya olmadan primer cerrahi müdahale ile tedavi

ve ardından 5 yıl boyunca adjuvan tamoksifen endokrin tedavisi (20 mg p.o./gün) görmüşse vakalar analizlere dahil edilmiştir. Teşhis amaçlı biyopsi veya primer cerrahi doku numuneleri mevcut değilse, önceden konmuş bir kanser teşhisi varsa (melanom dışı cilt kanseri hariç) veya hasta önceden veya adjuvan kemoterapi görmüşse vakalar analizlerin dışında bırakılmıştır. Primer tümörün bulunduğu toplam 1907 doku mikrodizi çekirdeği BenchMark ULTRA cihazında boyanmıştır. Boyalı slaytlar, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesini belirleyen üç bağımsız patolog tarafından değerlendirilmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az ≥ 1 'inde çekirdekte boyama görülen vakalar ER pozitif olarak kabul edilmiştir.¹³

Çalışmada, Ventana ER pozitif (ER+) durumuna sahip 441 hasta ve Ventana ER negatif (ER-) durumuna sahip 18 hasta olmuştur. Primer sağkalım analizi popülasyonuna yönelik olarak CONFIRM anti-ER (SP1) antikoru durumuna göre çizilen bir Kaplan-Meier sağkalım grafiği, Ventana ER+ ve ER- vakalar arasında güçlü bir ayrım olduğunu göstermiştir. Tamoksifen tedavisi uygulandığında, ER+ hastaların sağkalım süreleri ER- hastalardan daha uzun olmuştur. ER+ ve ER- hastalar için sağkalım sürelerinin medyan değerleri sırasıyla 101.6 ve 47.2 ay olmuştur. Log sıra testi, sağkalım grafikleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.001$) olduğunu göstermiştir.



Şekil 2. Ventana ER Durumuna Göre Kaplan-Meier Sağkalım Grafiği.

SORUN GİDERME

1. Pozitif kontrol, beklenenden daha zayıf boyama sergilerse sorunun primer antikordan mı ortak sekonder reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek için diğer pozitif kontrollerin eş zamanlı çalıştığını kontrol edin.
2. Pozitif kontrol negatifse slaytın uygun barkod etiketine sahip olduğundan emin olun. Slayt uygun şekilde etiketlenmişse sorunun primer antikordan mı ortak sekonder reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek için diğer pozitif kontrollerin eş zamanlı çalıştığını kontrol edin. Dokular uygun olmayan şekilde toplanmış, sabitlenmiş veya deparafinizasyona tabi tutulmuş olabilir. Toplama, saklama ve fiksasyon için uygun prosedürü izleyin.
3. Aşırı arka plan boyaması görürseniz yüksek seviyede endojen biyotin mevcut olabilir. Bir biyotin blokama adımı dahil edilmelidir.
4. Parafinin tamamı giderilmemişse deparafinizasyon prosedürünü tekrarlayın.
5. Spesifik antikor boyaması çok yoğunsa çalıştırmayı, primer antikor inkübasyon süresi istenen boyama yoğunluğunu elde etmek adına 4 dakikalık aralıklarla kısaltılmış olarak tekrarlayın.
6. Doku kesitleri slayttan çıkarsa pozitif yüklü olduklarından emin olmak için slaytları kontrol edin.
7. Düzeltici eylem için cihazın Kullanıcı Kılavuzunda Adım Adım Prosedür kısmına bakın veya yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

REFERANSLAR

1. Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen JA, et al. Estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta): subtype-selective ligands and clinical potential. Steroids. 2014;90:13-29.
2. Yasar P, Ayaz G, User SD, et al. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. Reprod Med Biol. 2017;16(1):4-20.

3. Tanos T, Rojo L, Echeverria P, et al. ER and PR signaling nodes during mammary gland development. *Breast Cancer Res.* 2012;14(4):210.
4. Diep CH, Ahrendt H, Lange CA. Progesterone induces progesterone receptor gene (PGR) expression via rapid activation of protein kinase pathways required for cooperative estrogen receptor alpha (ER) and progesterone receptor (PR) genomic action at ER/PR target genes. *Steroids.* 2016;114:48-58.
5. Carroll JS. Mechanisms of oestrogen receptor (ER) gene regulation in breast cancer. *Eur J Endocrinol.* 2016;175(1):R41-49.
6. Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2017;26(4):444-457.
7. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019.
8. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2206-2223.
9. McGuire WL. Estrogen receptors in human breast cancer. *J Clin Invest.* 1973;52(1):73-77.
10. Vollenweider-Zerargui L, Barrelet L, Wong Y, et al. The predictive value of estrogen and progesterone receptors' concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women. *Clinical correlation on 547 patients.* *Cancer.* 1986;57(6):1171-1180.
11. Cheang MC, Treaba DO, Speers CH, et al. Immunohistochemical Detection Using the New Rabbit Monoclonal Antibody SP1 of Estrogen Receptor in Breast Cancer Is Superior to Mouse Monoclonal Antibody 1D5 in Predicting Survival. *JCO.* 2006;24(36):5637-5644.
12. Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. *Rev Endocr Metab Disord.* 2007;8(3):229-239.
13. Hammond ME, Hayes DF, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134(6):907-22.
14. Bae YK, Gong G, Kang J, et al. Hormone Receptor Expression in Invasive Breast Cancer Among Korean Women and Comparison of 3 Antiestrogen Receptor Antibodies - A Multi-institutional Retrospective Study Using Tissue Microarrays. *Am J Surg Pathol* 2012;36:1817-1825.
15. Bogina G, Zamboni G, Sapino A, et al. Comparison of Anti-Estrogen Receptor Antibodies Sp1, 6f11, and 1d5 in Breast Cancer: Lower 1d5 Sensitivity but Questionable Clinical Implications. *Am J Clin Pathol.* 2012;138(5):697-702.
16. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
17. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). *Fed. Register.*
18. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
19. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
20. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, *Anatomic Pathology Checklist*, 2010.
21. CLSI. *Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline.* CLSI document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
22. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem.* 1991;66(4):194-199.
23. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol.* 1980;73(5): 626-32.
24. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med.* 1983;14:767.

NOT: Bu belgede, ondalık bir sayının tam sayı ve kesir kısımlarını ayırmak için ondalık ayırıcı olarak her zaman nokta kullanılmıştır. Binlik basamaklar için ayırıcı kullanılmamıştır.

Güvenlik ve performans özeti burada bulabilirsiniz:

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

Semboller

Ventana, ISO 15223-1 standardında listelenenlere ek olarak aşağıdaki sembol ve işaretleri kullanmaktadır (ABD için: kullanılan sembollerin tanımları için dialog.roche.com adresine bakın):



Küresel Ticari Ürün Numarası



Benzersiz Cihaz Tanımlayıcı



Tıbbi cihazı Avrupa Birliği'ne ithal eden kuruluşu belirtir

REVİZYON GEÇMİŞİ

Rev	Güncellemeler
G	Uyarılar ve Önlemler ve Analitik Performans bölümlerinde güncellemeler yapılmıştır.

FİKRİ MÜLKİYET

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView* ve VENTANA logosu, Roche şirketinin ticari markalarıdır. Tüm diğer ticari markalar, ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

İLETİŞİM BİLGİLERİ



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA

+1 520 887 2155

+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



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

