

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF	790-2223	Σ	50
	05277990001		
REF	790-4296	Σ	250
	05278392001		

IVD

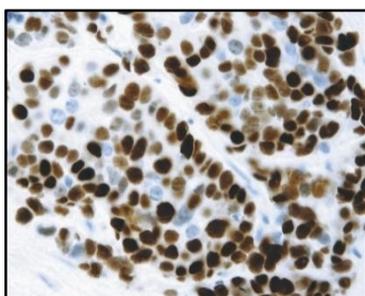


Рис. 1. Антитела CONFIRM anti-PR (1E2) для окрашивания тканей протоковой карциномы молочной железы.

НАЗНАЧЕНИЕ

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody предназначен для использования в лаборатории с целью качественной детекции антигена рецептора прогестерона (PR) в фиксированных формалином и залитых в парафин срезах тканей на устройстве для автоматического окрашивания препаратов VENTANA с помощью наборов для детекции VENTANA и дополнительных реагентов. CONFIRM anti-PR (1E2) направлено против эпитопа, присутствующего на белке рецептора

прогестерона человека, расположенном в ядре PR-положительных здоровых и опухолевых клеток. Антитела CONFIRM anti-PR (1E2) предназначены для использования в качестве вспомогательного средства при лечении, прогнозировании развития, а также прогнозировании результатов гормональной терапии карциномы молочной железы.

Этот продукт должен интерпретироваться квалифицированным врачом-патологоанатомом в сочетании с гистологическим исследованием, соответствующей клинической информацией и надлежащими средствами контроля.

Использовать только по предписанию врача.

Данное антитело предназначено для диагностики *in vitro* (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (антитела CONFIRM anti-PR (1E2)) — это кроличьи моноклональные антитела, которые распознают изоформы A и B рецептора прогестерона человека (PR). Иммуноген был разработан на основе синтетического пептида, идентифицированного как область потенциально высокой антигенности, общая для форм рецепторов прогестерона A и B. Этот пептид был синтезирован и ковалентно связан с гемоцианином лимфы улитки для дополнительного увеличения антигенности. Методом вестерн-блоттинга показано, что антитела CONFIRM anti-PR (1E2) реагируют с белками с молекулярной массой 60 кДа, 87 кДа и 110 кДа из клеток T47D. Размеры белков соответствуют прогнозируемой молекулярной массе форм A, B и C прогестеронового рецептора.¹

PR — это ядерный гормональный рецептор, кодируемый одним геном (PGR).^{1,2} Активность PR регулируется близкородственным ядерным гормональным рецептором — рецептором эстрогена (ER). Скоординированная работа ER и PR обеспечивает нормальное развитие молочной железы и необходима для дифференциации и пролиферации эпителия молочной железы у взрослых.^{1,2,3} Рак молочной железы — наиболее частая причина смерти от рака среди женщин.⁴ Для успешной диагностики и лечения этого заболевания необходимо его раннее выявление, а также надежная стратегия стратификации пациентов с назначением надлежащей терапии исходя из прогностических и предикторных факторов.^{5,6} Общепринятое диагностическое обследование на предмет рака молочной железы сочетает в себе физикальный осмотр, визуализацию и патологический анализ.⁵

ER является одним из основных онкомаркеров для лечения больных раком молочной железы. Клинические рекомендации и методические рекомендации по надлежащей практике предписывают определение ER-статуса в каждом случае первичного инвазивного рака молочной железы для выявления пациентов, у которых наиболее вероятен ответ на эндокринные виды терапии.^{5,6} Селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов блокируют рост эстрогензависимых раковых опухолей путем снижения избыточной активности ER и используются в качестве эндокринной терапии у пациентов со сверхэкспрессией данного рецептора.^{6,7}

На практике почти половина ER-положительных пациентов не реагируют на эндокринную терапию; явление, связанное со злокачественной трансформацией рецептора в раковых поражениях.⁸ Сверхэкспрессия PR может быть использована для дальнейшей характеристики опухоли молочной железы и прогнозирования терапевтического ответа, выступая в качестве показателя для оценки функционального статуса ER.^{8,9} В 1975 году была выдвинута гипотеза, что сверхэкспрессия PR может быть прогностическим маркером ответа на эндокринную терапию.⁸ Последующие исследования подтвердили прогностическое значение PR.^{10,11} Более высокий уровень экспрессии PR является показателем лучшего ответа на эндокринную терапию.¹⁰

Выявление PR является краеугольным камнем в лечении пациентов с инвазивной карциномой молочной железы.^{5,6,9} В руководствах и рекомендациях по передовой практике подчеркивается, что иммуногистохимическое исследование (IHC) является предпочтительным методом выявления PR при раке молочной железы.⁹ Поэтому выявление PR на основе IHC с помощью антитела CONFIRM anti-PR (1E2) может использоваться в качестве вспомогательного средства в лечении, прогнозировании и предсказании результатов терапии карциномы молочной железы.

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Антитела CONFIRM anti-PR (1E2) связываются с PR в фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) срезах тканей. Специфические антитела можно локализовать либо с помощью состава на основе вторичных антител, конъюгированных с биотином, который распознает иммуноглобулины кролика, с последующим добавлением конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена (HRP) (VIEW DAB Detection Kit) или с помощью конъюгата вторичных антител с HRP (ultraView Universal DAB Detection Kit). Далее специфический комплекс антитело-фермент визуализируется по выпадающему в осадок продукту ферментативной реакции.

Клинические случаи следует оценивать в контексте поведения надлежащих контролей. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) рекомендует включать в анализ положительный тканевый контроль, фиксированный и обработанный так же, как и образец, взятый у пациента (например, образец ткани слабоположительной карциномы молочной железы или матки). Помимо окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2), следует окрасить еще один препарат реагентом CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Для того чтобы результат анализа можно было считать достоверным, положительный тканевый контроль должен показать ядерное окрашивание опухолевых клеток либо желез и стромы эндометрия. Результаты окрашивания этих компонентов CONFIRM Negative Control Rabbit Ig должны быть отрицательными. Кроме того, рекомендуется включать отрицательный тканевый контроль образца (например, ткани PR-отрицательной карциномы молочной железы) в анализ каждой партии образцов, обрабатываемой и исследуемой на приборе BenchMark IHC/ISH. Этот отрицательный тканевый контроль следует окрашивать антителами CONFIRM anti-PR (1E2), чтобы убедиться в том, что усиление антигена и другие процедуры предварительной обработки не привели к ложноположительному окрашиванию.

МАТЕРИАЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

В комплект поставки входит антитело CONFIRM anti-PR (1E2) (№ по каталогу 790-2223) в количестве, достаточном для проведения 50 тестов.

Один диспенсер объемом 5 мл с антителами CONFIRM anti-PR (1E2) содержит приблизительно 5 мкг кроличьих моноклональных антител к антигену PR человека.

В комплект поставки входит антитело CONFIRM anti-PR (1E2) (№ по каталогу 790-4296) в количестве, достаточном для проведения 250 тестов.

Один диспенсер объемом 25 мл с антителами CONFIRM anti-PR (1E2) содержит приблизительно 25 мкг кроличьих моноклональных антител к антигену PR человека.

Антитела разведены в Tris-HCl с белком-носителем и 0.1 % ProClin 300 в качестве консерванта. Продукт содержит следы (~ 0.2 %) эмбриональной телячьей сыворотки (производства США) из базового раствора.

Концентрация специфических антител составляет приблизительно 1 мкг/мл. Неспецифической реактивности антител у данного продукта не обнаружено.

Антитела CONFIRM anti-PR (1E2) — это кроличьи моноклональные антитела, полученные в качестве супернатанта клеточной культуры.

В соответствующей технологической карте процесса, прилагаемой к набору для детекции VENTANA, приведена подробная информация о следующем: принцип использования; материал и методы; отбор образцов и подготовка к анализу; процедуры контроля качества; поиск и устранение неисправностей; интерпретация результатов; ограничения.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

В комплект поставки не входят реагенты для окрашивания, в частности наборы для детекции VENTANA и вспомогательные компоненты, включая предметные стекла с отрицательным и положительным тканевыми контролями.

Продукты, перечисленные в технологической карте процесса, могут быть недоступны в некоторых странах. Проконсультируйтесь с представителем региональной службы поддержки.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки:

1. рекомендованная контрольная ткань;
2. предметные стекла для микроскопа с положительным зарядом;
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (№ по каталогу 760-1029 / 05266238001);
4. View DAB Detection Kit (№ по каталогу 760-091 / 05266157001);
5. Endogenous Biotin Blocking Kit (№ по каталогу 760-050 / 05266092001);
6. ultraView Universal DAB Detection Kit (№ по каталогу 760-500 / 05269806001);
7. EZ Prep Concentrate (10X) (№ по каталогу 950-102 / 05279771001);
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (№ по каталогу 950-300 / 05353955001);
9. LCS (Predilute) (№ по каталогу 650-010 / 05264839001);
10. ULTRA LCS (Predilute) (№ по каталогу 650-210 / 05424534001);
11. Cell Conditioning 1 (CC1) (№ по каталогу 950-124 / 05279801001);
12. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (№ по каталогу 950-224 / 05424569001);
13. Hematoxylin II (№ по каталогу 790-2208 / 05277965001);
14. Bluing Reagent (№ по каталогу 760-2037 / 05266769001);
15. прибор BenchMark IHC/ISH.
16. лабораторное оборудование общего назначения.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

После получения продукта и пока он не используется, его следует хранить при температуре 2–8 °C. Не замораживать.

Чтобы обеспечить надлежащую доставку реагента и стабильность антитела, после каждого использования необходимо заменять колпачок диспенсера. Диспенсер следует немедленно ставить в холодильник в вертикальном положении.

На каждом диспенсере антител указан срок годности. При соблюдении условий хранения реагент остается стабильным до даты, указанной на этикетке. Не использовать реагент после истечения срока годности.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

При использовании наборов для детекции VENTANA и приборов BenchMark IHC/ISH данное первичное антитело можно использовать со стандартно обработанными тканями FFPE. Обработку образцов рекомендуется выполнять следующим образом.¹²

Поместите образец в 10 %-й нейтральный забуференный формалин. Фиксатор ткани следует использовать в количестве, в 15–20 раз превышающем объем ткани. Ни один фиксатор не проникает в плотную ткань более чем на 2–3 мм, а в пористую ткань — более чем на 5 мм за 24 часа. Срезы тканей толщиной не более 3 мм следует фиксировать в течение не менее 4 часов и не более 8 часов. Фиксацию можно проводить при комнатной температуре (15–25 °C).

После фиксации образец помещают в прибор для обработки тканей для подготовки в течение ночи. В общих чертах эта обработка предполагает обезвоживание образца спиртами, последующее удаление спиртов просветляющими реагентами и, наконец, пропитку парафином.

Образцы заливают в парафин в кассетах для заливки ткани, и формируют срезы толщиной приблизительно 4 мкм, центрированные и наклеенные на предметные стекла. Следует использовать предметные стекла Superfrost Plus или их аналоги. Ткань следует высушить на воздухе, оставив на предметных стеклах на ночь при комнатной температуре или поместив на 30 минут в духовой шкаф, нагретый до температуры 60 °C.

Предметные стекла следует окрашивать немедленно, поскольку антигенность срезов тканей может уменьшаться со временем. Для получения дополнительной информации обратитесь к представителю компании Roche за копией документа «Recommended Slide Storage and Handling».

Одновременно с исследованием неизвестных образцов рекомендуется провести исследование на положительном и отрицательном контролях.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики in vitro (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. Не использовать для проведения количества тестов, превышающего указанное.
4. В данном реагенте в качестве консерванта используется раствор ProClin 300. Он относится к веществам раздражающего действия и при контакте с кожей может стать причиной раздражения. При обращении соблюдать разумные меры предосторожности. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
5. Продукт содержит не более 1 % бычьей сыворотки, которая используется при производстве антител.
6. Предметные стекла с положительным зарядом могут быть чувствительными к воздействию факторов окружающей среды, что ведет к некорректному окрашиванию. Обратитесь в представительство компании Roche для получения более подробной информации об использовании предметных стекол данного типа.
7. Материалы животного или человеческого происхождения должны рассматриваться как биологически опасные и утилизироваться с соблюдением надлежащих мер предосторожности. В случае контакта с ними необходимо следовать руководящим указаниям ответственных здравоохранительных органов.^{13,14}
8. Избегайте контакта реагентов с глазами и слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте пораженные участки достаточным количеством воды.
9. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.
10. Дальнейшую информацию по использованию изделия см. в руководстве пользователя прибора BenchMark IHC/ISH и инструкциях по применению всех необходимых компонентов на веб-сайте navifyportal.roche.com.
11. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными компетентными органами в отношении рекомендуемого способа утилизации.
12. Маркировка безопасности продукции в первую очередь соответствует директивам ЕС по СГС. Паспорт безопасности предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
13. Чтобы сообщить о подозрениях на серьезные происшествя, связанные с данным изделием, обращайтесь в местное представительство компании Roche и в уполномоченный орган государства-участника или страны местонахождения пользователя.

Данный продукт содержит компоненты, классифицированные согласно регламенту (ЕС) № 1272/2008 следующим образом.

Табл. 1. Информация об опасности.

Опасность	Код	Заявление
	H317	Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
	H412	Вредно для водной флоры и фауны с долговременными эффектами.
	P261	Избегать вдыхания взвеси или паров.
	P273	Избегать попадания в окружающую среду.
	P280	Надевать защитные перчатки.

Опасность	Код	Заявление
	P333 + P313	Если происходит раздражение кожи или появление сыпи: обратиться к врачу.
	P362 + P364	Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием.
	P501	Утилизировать содержимое/контейнер на утвержденных предприятиях по утилизации отходов.

Данный продукт содержит реакционную массу с номером CAS 55965-84-9: смесь 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-она и 2-метил-2Н-изотиазол-3-она (3 : 1).

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

Первичные антитела VENTANA разработаны для использования в приборах BenchMark IHC/ISH в сочетании с наборами для детекции и вспомогательными принадлежностями VENTANA. Рекомендуемые протоколы окрашивания см. в Табл. 2 и Табл. 3.

Данное антитело оптимизировано для инкубации в течение конкретных периодов времени, однако пользователю необходимо провести валидацию результатов, полученных с использованием данного реагента.

Параметры автоматизированных процедур можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в соответствии с процедурой, приведенной в руководстве пользователя прибора. Подробнее о процедурах иммуногистохимического окрашивания см. в технологической карте процесса для соответствующего набора для детекции VENTANA.

Подробнее о надлежащем использовании данного продукта см. в технологической карте процесса для поточного диспенсера, соответствующей номеру по каталогу 790-4509 или 790-4296.

Рекомендуемый протокол окрашивания для каждого набора для детекции прошел верификацию и валидацию в ходе испытаний в рамках контроля в процессе проектирования, а также в рамках клинических испытаний.

При внесении любых изменений в рекомендуемую процедуру окрашивания рабочие характеристики, заявленные в настоящей технологической карте процесса, становятся недействительными. Пользователь обязан провести валидацию любых изменений рекомендуемой процедуры окрашивания.

Табл. 2. Рекомендованный протокол окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) с использованием набора для детекции *ultraView Universal DAB Detection Kit* на приборах BenchMark IHC/ISH.

Тип процедуры	Метод	
	XT	ULTRA или ULTRA PLUS
Депарафинизация	Выбрано	Выбрано
Cell Conditioning (демаскирование антигена)	CC1, стандарт	ULTRA CC1, стандарт
Антитело (первичное)	16 минут, 37 °C	16 минут, 36 °C
Контрастное окрашивание (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 мин	Hematoxylin II, 4 мин
Обработка после контрастного окрашивания	Bluing, 4 мин	Bluing, 4 мин

Табл. 3. Рекомендованный протокол окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) с использованием набора для детекции *VIEW DAB Detection Kit* на приборах BenchMark IHC/ISH.

Тип процедуры	Метод	
	XT	ULTRA
Депарафинизация	Выбрано	Выбрано

Тип процедуры	Метод	
	XT	ULTRA
Cell Conditioning (демаскирование антигена)	CC1, стандарт	ULTRA CC1, стандарт
Антитело (первичное)	16 минут, 37 °C	16 минут, 36 °C
A/B Block (блокировка биотина)	Обязательно	Обязательно
Контрастное окрашивание	Hematoxylin II, 4 мин	Hematoxylin II, 4 мин
Обработка после контрастного окрашивания	Bluing, 4 мин	Bluing, 4 мин

ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Положительный тканевый контроль

Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно стекло с исследуемой тканью. Это позволяет распознать случаи, когда реагенты нанесены на предметное стекло неправильно. Для контроля качества лучше всего подойдет образец ткани, в норме показывающий слабое положительное окрашивание.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля работы с реагентами и приборами, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании тестовых образцов. Если не наблюдается положительного окрашивания положительных тканевых контролей, результаты окрашивания исследуемого образца следует считать недействительными.

При выполнении каждой процедуры окрашивания необходимо проводить анализ положительного тканевого контроля. CAP рекомендует помещать положительный тканевый контроль на предметное стекло с образцом, взятым у пациента.⁹ В качестве положительного контроля с антителами CONFIRM anti-PR (1E2) можно использовать слабоположительную ткань карциномы молочной железы. Компоненты положительного окрашивания тканей (ядерное окрашивание опухолевых клеток) используются для подтверждения того, что антитело CONFIRM anti-PR (1E2) было нанесено и что прибор работает надлежащим образом. Данная ткань может содержать как положительно, так и отрицательно окрашиваемые клетки или компоненты ткани и использоваться в качестве как положительного, так и отрицательного тканевого контроля. В качестве контролей следует использовать свежие образцы тканей, полученные при вскрытии, биопсии или в ходе хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать точно таким же способом как и исследуемые образцы. С помощью таких тканевых контролей можно осуществлять мониторинг всех этапов процедуры, от приготовления образцов тканей до окрашивания. Использование срезов тканей, фиксированных или обработанных иначе, чем исследуемый образец, позволяет осуществлять контроль для всех реагентов и этапов методики, за исключением фиксации и обработки тканей.

Ткань со слабым положительным окрашиванием подходит для контроля качества и выявления незначительной деградации реагентов лучше, чем образец с сильным положительным окрашиванием. В идеале следует выбирать ткань карциномы молочной железы с заведомо слабым, но положительным окрашиванием. Это позволяет убедиться, что система чувствительна к незначительной деградации реагентов, а также проблемам, связанным методикой ИHC.

В качестве альтернативы для положительного контроля можно использовать здоровый пролиферативный эндометрий человека. Положительно окрашиваются клетки железистого эпителия (ядерное окрашивание) и клетки стромы, а также гладкомышечные клетки. Однако ткань эндометрия может не окрашиваться достаточно слабо для того, чтобы можно было выявить незначительную деградацию реагента или проблемы, связанные с методикой ИHC.

Отрицательный тканевый контроль

В рамках каждого цикла окрашивания используйте тканевый контроль, о котором известно, что он фиксирован, обработан и залит точно тем же способом, что и образец (образцы) пациента. Это необходимо для проверки специфичности антител

CONFIRM anti-PR (1E2) в отношении детекции PR, а также для индикации специфического фонового окрашивания (ложноположительного окрашивания). Кроме того, клетки различных типов в большинстве срезов тканей могут использоваться лаборантами в качестве внутреннего отрицательного контроля для проверки характеристик эффективности антитела CONFIRM anti-PR (1E2). Так, например, ткань (эндометрий), которая используется в качестве положительного тканевого контроля, может использоваться и как отрицательный тканевый контроль. Компоненты, которые не окрашиваются (цитоплазма, клеточная мембрана), не должны давать специфического окрашивания в клетках, окрашивание которых не ожидается, и обеспечивать индикацию специфического фонового окрашивания. Отрицательный тканевый контроль также следует использовать в качестве вспомогательного средства при интерпретации результатов. Разнообразные типы клеток, имеющиеся в большинстве срезов тканей, часто служат отрицательными контролями, однако этот факт должен быть проверен пользователем. При специфическом окрашивании участков, служащих отрицательными тканевыми контролями, результаты исследования образцов, взятых у пациента, следует считать недействительными.

Реагент отрицательного контроля

Для облегчения интерпретации результатов необходимо при анализе каждого образца исследовать реагент отрицательного контроля. Реагент отрицательного контроля используется вместо первичных антител для оценки неспецифического окрашивания и повышения эффективности интерпретации специфического окрашивания на участке, где присутствует антиген. Таким образом обеспечивается индикация неспецифического фонового окрашивания для каждого предметного стекла. Вместо первичных антител окрасьте препарат реагентом CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, очищенным неиммунным IgG кролика, который не вступает в реакцию с образцами тканей человека. Если используется альтернативный реагент отрицательного контроля, разведите его VENTANA Antibody Diluent в той же пропорции, что и антисыворотку из первичных антител. В антителах CONFIRM anti-PR (1E2) сохраняется приблизительно 0.2 % эмбриональной телячьей сыворотки. Если добавить 0.2 % эмбриональной телячьей сыворотки в VENTANA Antibody Diluent, то полученная смесь также подойдет для использования в качестве неспецифического отрицательного контроля реагента. Время инкубации для реагента отрицательного контроля должно быть таким же, как и для первичных антител.

При использовании панелей из нескольких антител на серийных срезах реагент отрицательного контроля на одном предметном стекле может служить отрицательным контролем или контролем фонового неспецифического связывания для других антител.

Верификация анализа

Перед началом использования данных антител для диагностики, а также при смене номера партии следует проверять специфичность антител путем окрашивания ряда образцов положительных и отрицательных тканей и известными рабочими характеристиками. См. процедуры контроля качества, описанные в этом разделе листа-вкладыша ранее, а также рекомендации по контролю качества в College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist или CLSI Approved Guideline, или в обоих этих документах.^{16,17} Эти процедуры контроля качества следует повторять для каждой новой партии антител, а также при каждой смене номера партии какого-либо из реагентов в подобранном наборе либо при изменении параметров анализа. Контроль качества не может быть эффективно осуществлен для отдельного реагента, поскольку соответствующие реагенты вместе с определенным протоколом анализа должны быть протестированы одновременно перед использованием набора в диагностических целях. Для верификации анализа подходят ткани, перечисленные в кратком описании ожидаемых результатов. Должны соблюдаться все требования к контролю качества с учетом местных, государственных и федеральных нормативов, а также требований к аккредитации.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОКРАШИВАНИЯ/ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

При проведении процедуры окрашивания наблюдается выпадение цветного осадка в местах локализации антигена, выявленных с помощью антител CONFIRM anti-PR (1E2). Перед интерпретацией результатов квалифицированный врач-патологоанатом, имеющий опыт в области иммуногистохимических (ИНС) методик, должен оценить положительные и отрицательные контроли и качество окрашенного микропрепарата. Статус по рецептору протестерона определяется по процентной доле окрашенных опухолевых клеток. Случай считается положительным по PR, если окрасились ядра не менее чем 1 % опухолевых клеток.⁹

Положительный тканевый контроль

Сначала необходимо исследовать положительный тканевый контроль, окрашенный антителами CONFIRM anti-PR (1E2), чтобы убедиться, что все реагенты функционируют надлежащим образом. Присутствие в ядрах клеток-мишеней продукта реакции коричневого цвета (3,3'-диаминобензидина тетрагидрохлорида, DAB) говорит о положительной реакции. В качестве положительного контроля можно использовать, например, заведомо слабоположительную ткань карциномы молочной железы (напр. $\geq 1\%$). Ядра опухолевых клеток должны быть положительными. Абсолютно необходимо считать положительным только ядерное окрашивание, чтобы избежать ложноположительной интерпретации. Можно использовать также нормальный эндометрий человека. В нормальном эндометрии окрашивание PR наблюдается в ядрах эндометриальных желез и стромы. Если не наблюдается надлежащего положительного окрашивания положительных тканевых контролей, любые результаты окрашивания исследуемых образцов следует считать недействительными.

Отрицательный тканевый контроль

Отрицательный тканевый контроль необходимо исследовать после положительного тканевого контроля для проверки специфического мечения целевого антигена первичными антителами. Отсутствие специфического окрашивания отрицательного тканевого контроля подтверждает отсутствие перекрестной реактивности антител в клетках или компонентах клеток. Ткань карциномы молочной железы, используемая в качестве положительного контроля, может использоваться также и в качестве отрицательного тканевого контроля. Заведомо PR-отрицательные центральные элементы стромы, например клетки эндотелия, не должны давать ядерного окрашивания. При специфическом окрашивании отрицательных тканевых контролей результаты исследования образца, взятого у пациента, следует считать недействительными.

Неспецифическое окрашивание, если таковое присутствует, имеет диффузионный характер. В срезах тканей, избыточно фиксированных формалином, может также местами наблюдаться спорадическое слабое окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки, так как некротические или выродившиеся клетки часто дают неспецифическое окрашивание.¹⁸

Ткань пациента

Взятые у пациента образцы, окрашенные антителами CONFIRM anti-PR (1E2), исследуются в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать в контексте неспецифического фонового окрашивания реагентом отрицательного контроля. PR может быть обнаружен в других новообразованиях, например опухолях яичника и эндометрия.¹⁹ При интерпретации любого результата иммуногистохимического исследования необходимо также изучить морфологию каждого образца ткани, используя срез, окрашенный гематоксилином и эозином. Интерпретация морфологических данных, а также значимых клинических данных должна осуществляться квалифицированным врачом-патологоанатомом. См. конкретную информацию об иммунореактивности в разделах «Краткое описание и информация», «Ограничения», а также «Краткое описание ожидаемых результатов».

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общие ограничения

1. ИНС — это многоэтапная диагностическая процедура, которая требует специальной подготовки в области выбора подходящих реагентов и тканей, фиксации, обработки, приготовления иммуногистохимического препарата и интерпретации результатов окрашивания.
2. Результат окрашивания ткани зависит от метода подготовки и обработки ткани перед окрашиванием. Ненадлежащее выполнение фиксации, замораживания, размораживания, промывки, сушки, нагрева или микротомирования, а также загрязнение образца другими тканями или жидкостями может привести к появлению артефактов, захвату антител или получению ложноотрицательных результатов. Противоречивые результаты могут быть получены вследствие различий в методиках фиксации и заливки или вследствие присущей исследуемой ткани неоднородности.
3. Чрезмерное или недостаточное контрастное окрашивание может стать причиной достоверной интерпретации результатов.
4. Клиническая интерпретация любого положительного результата окрашивания либо его отсутствия должна осуществляться с учетом истории болезни,

морфологических данных и других гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация любого положительного результата окрашивания либо его отсутствия должна дополняться морфологическими исследованиями, а также оценкой надлежащих контролей и другими диагностическими исследованиями. Данные антитела предназначены для использования в составе панели антител. Интерпретация должна осуществляться квалифицированным врачом-патологоанатомом, который обязан иметь надлежащее представление об антителах, реагентах и методике приготовления окрашенного препарата. Окрашивание должно выполняться в сертифицированной и лицензированной лаборатории под наблюдением врача-патологоанатома, который отвечает за просмотр окрашенных препаратов и за обеспечение адекватности положительных и отрицательных контролей.

- Компания Ventana поставляет антитела и реагенты в оптимальном разведении для проведения анализа с соблюдением прилагаемых инструкций. Любое отклонение от рекомендованных процедур проведения теста может привести к тому, что ожидаемые результаты будут недостоверны. Необходимо использовать надлежащие контрольные образцы и документировать их использование. Пользователи, не соблюдающие рекомендованные методики выполнения анализа, обязаны принимать на себя ответственность за интерпретацию результатов, полученных у пациента.
- Данный продукт не предназначен для использования в проточной цитометрии, рабочие характеристики применительно к такому использованию не определены.
- Применение реагентов может привести к неожиданным реакциям в ранее не исследованных тканях. Нельзя полностью исключать возможность непредвиденных реакций даже при работе с ранее исследовавшимися группами тканей в связи с биологической вариативностью экспрессии антигенов в новообразованиях или других патологических тканях.²⁰ О документально зафиксированных непредвиденных реакциях сообщайте представителю региональной службы поддержки.
- Ткани, взятые у инфицированных вирусом гепатита В, и содержащие поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), могут давать неспецифическое окрашивание при обработке пероксидазой хрена.²¹
- При использовании на этапах блокировки нормальные сыворотки, полученные из того же животного источника, что и вторичные антисыворотки, могут давать ложноотрицательные или ложноположительные результаты в связи с присутствием аутоантител или естественных антител.
- Ложноположительные результаты возможны вследствие неиммунного связывания белков или продуктов реакции с субстратом. Они также могут быть обусловлены активностью псевдопероксидазы (эритроциты), эндогенной пероксидазы (цитохром С) или эндогенного биотина (примеры: печень, головной мозг, молочная железа, почка) в зависимости от используемого типа иммуноокрашивания.¹⁸
- Как и при любом другом ИНС исследовании, отрицательный результат теста означает, что антиген не выявлен, что не равнозначно отсутствию антигена в исследуемых клетках или ткани.

Особые ограничения

- Антитела в сочетании с наборами для детекции и вспомогательными принадлежностями VENTANA обеспечивают детекцию антигена, сохранившегося после стандартной фиксации формалином, обработки ткани и микромирования. Пользователи, допускающие отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования, отвечают за интерпретацию и валидацию результатов, полученных для образцов, взятых у пациентов.
- Отрицательный результат, полученный с помощью антител CONFIRM anti-PR (1E2), не исключает присутствия PR. Отрицательные реакции в карциномах молочной железы могут быть обусловлены потерей или значительным снижением экспрессии антигена. Поэтому рекомендуется использовать данные антитела в составе панели антител, в том числе к рецепторам эстрогена.
- Положительное ядерное окрашивание антителами клона 1E2 наблюдалось в тканях миндалин.²² Использование антител CONFIRM anti-PR (1E2) не показано для миндалин. Поэтому если в качестве отрицательного тканевого

контроля используются ткани миндалин, их следует проверить, чтобы убедиться, что выбран случай отрицательного окрашивания.

Анализы могут регистрироваться не на каждом приборе. Для получения дополнительной информации обратитесь в местное представительство компании Roche.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Для данного реагента были проведены исследования специфичности, чувствительности и прецизионности окрашивания. Результаты приведены ниже.

Чувствительность и специфичность

Чувствительность и специфичность антител CONFIRM anti-PR (1E2) определялась путем окрашивания ряда образцов нормальных тканей человека. Результаты представлены в Табл. 4 и Табл. 5. Положительное окрашивание имело ядерный характер во всех исследованных тканях, причем в одном случае ткань яичника вопреки ожиданиям дала отрицательный результат окрашивания. Наблюдалось положительное окрашивание тканей щитовидной железы, однако такие случаи выявлялись и ранее.²³ Положительное ядерное окрашивание антителами клона 1E2 наблюдалось в тканях миндалин.²²

Табл. 4. Чувствительность/специфичность окрашивания антителом CONFIRM anti-PR (1E2) определялась путем окрашивания различных FFPE здоровых тканей.

Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев	Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Конечный мозг	0/5	Пищевод	0/3
Мозжечок	0/3	Желудок	0/3
Надпочечник	0/3	Тонкий кишечник	0/3
Яичник	2/3	Толстая кишка	0/3
Поджелудочная железа	3/3	Печень	0/3
Паращитовидная железа	0/4	Слюнная железа	0/3
Гипофиз	3/3	Почка	0/3
Яичко	0/3	Предстательная железа	1/3
Щитовидная железа	0/5	Мочевой пузырь	0/5
Молочная железа ^a	4/4	Эндометрий	1/3
Селезенка	1/3	Шейка матки	8/8
Миндалины	1/3	Скелетная мускулатура	0/5
Тимус	0/3	Кожа	0/3
Костный мозг	0/3	Нерв	0/3
Легкое	0/3	Мезотелий	0/3
Сердце	0/3		

^a Ткани включают фиброзно-жировую ткань.

Иммунореактивность антител CONFIRM anti-PR (1E2) определялась путем окрашивания ряда образцов опухолевых тканей человека. Образцы считались PR-положительными, если в них наблюдалось окрашивание ядер не менее $\geq 1\%$ клеток инвазивной опухоли.

Табл. 5. Чувствительность/специфичность антител CONFIRM anti-PR (1E2) определялась путем исследования FFPE опухолевых тканей.

Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Глиобластома (головной мозг)	0/1
Менингиома (головной мозг)	0/1
Эпендимома (головной мозг)	0/1
Олигодендроглиома (мозжечок)	0/1
Серозная аденокарцинома (яичники)	1/1
Муцинозная аденокарцинома (яичники)	0/1
Нейроэндокринное новообразование (поджелудочная железа)	1/1
Аденокарцинома (поджелудочная железа)	0/1
Семинома (яички)	0/1
Эмбриональная карцинома (яички)	0/1
Медуллярная карцинома (щитовидная железа)	1/1
Папиллярная карцинома (щитовидная железа)	0/1
Протоковая карцинома in situ (молочная железа)	1/1
Инвазивная протоковая карцинома (молочная железа)	0/1
В-клеточная лимфома; неутонченная (селезенка)	0/1
Мелкоклеточная карцинома (легкое)	0/1
Плоскоклеточная карцинома (легкое)	0/1
Аденокарцинома (легкое)	0/1
Плоскоклеточная карцинома (пищевод)	0/1
Аденокарцинома (пищевод)	0/1
Муцинозная аденокарцинома (желудок)	0/1
Аденокарцинома (кишечник)	0/1
Аденокарцинома (толстая кишка)	0/1
Злокачественное смешанное мезенхимальное новообразование (толстая кишка)	0/1
Аденокарцинома (прямая кишка)	0/1
Злокачественное смешанное мезенхимальное новообразование (прямая кишка)	0/1
Меланома (прямая кишка)	0/1
Гепатоцеллюлярная карцинома (печень)	0/1
Гепатобластома (печень)	0/1
Светлоклеточная карцинома (почки)	0/1
Аденокарцинома (предстательная железа)	1/1
Уротелиальная карцинома (предстательная часть уретры)	1/1
Лейомиома (матка)	1/1
Аденокарцинома (матка)	1/2
Светлоклеточная карцинома (матка)	0/1
Плоскоклеточная карцинома (шейка матки)	1/1

Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Эмбриональная рабдомиосаркома (поперечно-полосатая мускулатура)	0/1
Плоскоклеточная карцинома (поперечно-полосатая мускулатура)	0/1
Базальноклеточная карцинома (кожа)	0/1
Нейрофиброма (средостение)	1/1
Нейробластома (забрюшинное пространство)	1/1
Мезотелиома (брюшина)	0/1
Лимфома Ходжкина (лимфоузел)	0/1
Лимфома; неутонченная (лимфоузел)	0/2
В-клеточная лимфома, неутонченная (лимфоузел)	0/1
Уротелиальная карцинома (мочевой пузырь)	0/1

Чувствительность зависит от сохранности антигена. Неправильное обращение с тканями при фиксации, микротомировании, заливке или хранении, в результате которого меняется антигенность, ведет к снижению качества детекции PR с помощью антител CONFIRM anti-PR (1E2) и может приводить к получению ложноотрицательных результатов.

Прецизионность приборов BenchMark XT и BenchMark ULTRA

В рамках исследования повторяемости окрашивалось шесть отдельных образцов тканей. Из шести образцов в двух экспрессия PR была высокой, в двух экспрессия PR была низкой, и еще два образца были признаны PR-отрицательными исходя из того, что пороговое значение при окрашивании для отрицательного результата составляет < 1 % опухолевых клеток, для низкого уровня — 1–10 %, а для высокой экспрессии — > 10 %.

Для исследования повторяемости в пределах цикла 9 препаратов каждого образца окрашивались антителами CONFIRM anti-PR (1E2) и один препарат каждого образца окрашивался антителами CONFIRM Negative Control Rabbit Ig на приборе BenchMark XT. Тестирование с такими же параметрами было выполнено на приборе BenchMark ULTRA. Повторяемость в пределах цикла для антител CONFIRM anti-PR (1E2) как на приборе BenchMark XT, так и на приборе BenchMark ULTRA составила 100 % для всех положительных тканей по всем шести случаям.

Для исследования промежуточной прецизионности между испытаниями в разные дни четыре препарата каждого образца окрашивались антителами CONFIRM anti-PR (1E2) и один препарат каждого образца окрашивался антителами CONFIRM Negative Control Rabbit Ig в пяти разных непоследовательных циклах, проводившихся в течение 20 дней на одном и том же приборе BenchMark XT. Тестирование с такими же параметрами было выполнено на приборе BenchMark ULTRA. Промежуточная прецизионность между испытаниями в разные дни для антител CONFIRM anti-PR (1E2) как на приборе BenchMark XT, так и на приборе BenchMark ULTRA составила 100 % для всех положительных тканей по всем шести образцам.

С целью исследования промежуточной прецизионности между приборами BenchMark XT по 4 препарата каждого из шести образцов окрашивались антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на трех разных приборах BenchMark XT. По одному препарату каждого образца окрашивали антителами CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Промежуточная прецизионность между приборами для антител CONFIRM anti-PR (1E2) на трех приборах BenchMark XT составила 100 % для всех шести образцов.

С целью исследования промежуточной прецизионности между приборами BenchMark ULTRA по 4 препарата каждого из шести образцов окрашивались антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на трех разных приборах BenchMark ULTRA. По одному препарату каждого образца окрашивали антителами CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Промежуточная прецизионность между приборами для антител CONFIRM anti-PR (1E2) на трех приборах BenchMark ULTRA составила 100 % для всех шести образцов.

Все исследования воспроизводимости соответствовали критериям приемлемости для прохождения испытания.

Прецизионность прибора BenchMark ULTRA PLUS

В рамках исследования прецизионности окрашивалось девять отдельных образцов тканей. Из девяти образцов в трех экспрессия PR была высокой, в трех экспрессия PR была низкой, и еще три образца были признаны PR–отрицательными исходя из того, что пороговое значение при окрашивании для отрицательного результата составляет < 1 % опухолевых клеток, для низкого уровня — 1–10 %, а для высокой экспрессии — > 10 %.

Для исследования повторяемости в пределах цикла пять препаратов каждого образца окрашивались антителами CONFIRM anti-PR (1E2) и один препарат каждого образца окрашивался антителами CONFIRM Negative Control Rabbit Ig на приборе BenchMark ULTRA PLUS. Повторяемость в пределах цикла для антител CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA PLUS составила 100 %. Препараты, окрашенные CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, были приемлемы по параметрам сигнала и фона.

Для исследования промежуточной прецизионности между испытаниями в разные дни два препарата каждого образца окрашивались антителами CONFIRM anti-PR (1E2) и один препарат каждого образца окрашивался антителами CONFIRM Negative Control Rabbit Ig в пяти разных непоследовательных циклах, проводившихся в течение 20 дней на одном и том же приборе BenchMark ULTRA PLUS.

Промежуточная прецизионность между испытаниями в разные дни для антител CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA PLUS составила 97.8 %. Препараты, окрашенные CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, были приемлемы по параметрам сигнала и фона.

С целью исследования промежуточной прецизионности между приборами BenchMark ULTRA PLUS по 2 препарата каждого образца окрашивались антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на трех разных приборах BenchMark ULTRA PLUS. По одному препарату каждого образца окрашивали антителами CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Промежуточная прецизионность между приборами для антител CONFIRM anti-PR (1E2) на трех приборах BenchMark ULTRA PLUS составила 98.1 %.

Межлабораторная воспроизводимость

Исследование межлабораторной воспроизводимости результатов для антител CONFIRM anti-PR (1E2) проводилось с использованием 14 препаратов тканей рака молочной железы (8 положительных, 2 слабоположительных, 4 отрицательных), каждый из которых исследовался на 3 приборах BenchMark XT и 3 приборах BenchMark ULTRA с помощью наборов для детекции *VIEW DAB* и *ultraView Universal DAB Detection Kit* в каждый из 5 не идущих подряд дней в течение не менее 20 дней в 3 сторонних лабораториях. Образцы были рандомизированы и оценены в общей сложности 6 врачами-патологоанатомами (по 2 эксперта в каждом исследовательском центре) на предмет процентной доли окрашенных опухолевых клеток. Образец считался PR-положительным, если в нем наблюдалось окрашивание ядер не менее 1 % клеток инвазивной опухоли.⁹

При определении прецизионности между исследовательскими центрами показатели среднего количества совпадений положительных результатов (APA) и среднего количества совпадений отрицательных результатов (ANA) для клинической оценки антител CONFIRM anti-PR (1E2) составили 99.7 % и 99.1 %, соответственно, на приборе BenchMark ULTRA при детекции с помощью набора *VIEW*; 98.6 % и 95.4 %, соответственно, на приборе BenchMark ULTRA при детекции с помощью набора *ultraView Universal DAB Detection Kit*; 99.4 % и 98.4 %, соответственно, на приборе BenchMark XT при детекции с помощью набора *VIEW*; и 97.4 % и 91.3 %, соответственно, на приборе BenchMark XT при детекции с помощью набора *ultraView Universal DAB Detection Kit*.

При определении прецизионности между днями показатели APA и ANA для клинической оценки антител CONFIRM anti-PR (1E2) составили 99.7 % и 99.1 %, соответственно, на приборе BenchMark ULTRA при детекции с помощью набора *VIEW*; 98.5 % и 95.5 %, соответственно, на приборе BenchMark ULTRA при детекции с помощью набора *ultraView Universal DAB Detection Kit*; 99.3 % и 98.3 %, соответственно, на приборе BenchMark XT при детекции с помощью набора *VIEW*; и 97.0 % и 90.8 %, соответственно, на приборе BenchMark XT при детекции с помощью набора *ultraView Universal DAB Detection Kit*.

При определении прецизионности между экспертами показатели APA и ANA для клинической оценки антител CONFIRM anti-PR (1E2) составили 99.7 % и 99.1 %, соответственно, на приборе BenchMark ULTRA при детекции с помощью набора *VIEW*; 98.6 % и 95.6 %, соответственно, на приборе BenchMark ULTRA при детекции

с помощью набора *ultraView Universal DAB Detection Kit*; 99.3 % и 98.3 %, соответственно, на приборе BenchMark XT при детекции с помощью набора *VIEW*; и 98.6 % и 95.1 %, соответственно, на приборе BenchMark XT при детекции с помощью набора *ultraView Universal DAB Detection Kit*.

При определении прецизионности между платформами на инструментах BenchMark ULTRA и BenchMark XT показатели APA и ANA составили 99.5 % и 98.7 % соответственно для *VIEW* и 98.0 % и 93.9 % соответственно для *ultraView Universal DAB Detection Kit*.

При определении прецизионности одной платформы показатели APA и ANA составили 98.7 % и 96.4 % соответственно для прибора BenchMark ULTRA и 97.4 % и 92.6 % соответственно для прибора BenchMark XT.

Сравнительное исследование наборов для детекции *VIEW DAB Detection Kit* и *ultraView Universal DAB Detection Kit* с использованием антител CONFIRM anti-PR (1E2).

Антитело CONFIRM anti-PR (1E2) использовалось для проведения сравнительного исследования наборов для детекции на двух приборах (BenchMark XT и BenchMark ULTRA) с использованием наборов для детекции *VIEW DAB Detection Kit* и *ultraView Universal DAB Detection Kit*. В рамках анализа использовались сто девяносто девять образцов тканей. Из этих образцов приблизительно половину составляли положительные и наполовину отрицательные (результаты зависели от количества окрашенных опухолевых клеток). Окрашенные препараты оценивались врачами-патологоанатомами, которые определяли процент окрашенных опухолевых клеток. Образец считался PR-положительным, если в нем наблюдалось окрашивание ядер не менее 1 % клеток опухоли.

Показатели морфологической приемлемости и приемлемости фоновое окрашивания составляли 100 % для обоих наборов для детекции, за исключением использовавшегося на приборе BenchMark ULTRA набора *ultraView Universal DAB Detection Kit*, для которого показатель приемлемости фоновое окрашивания составил 99.5 %. Данные прямого сравнения наборов для детекции по положительным и отрицательным результатам клинической оценки для каждой платформы представлены в Табл. 6 для прибора BenchMark ULTRA и в Табл. 7 для прибора BenchMark XT.

Табл. 6. Результаты клинической оценки для *ultraView Universal DAB Detection Kit* в сравнении с *VIEW DAB Detection Kit* при использовании прибора BenchMark ULTRA.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный	94	11	105
Отрицательный	2	86	88
Всего	96	97	193
	n/N	% (95 % CI)	
Процент совпадения положительных результатов	94/96	97.9 (92.7–99.4)	
Процент совпадения отрицательных результатов	86/97	88.7 (80.8–93.5)	
Общий процент совпадения	180/193	93.3 (88.8–96.0)	

Табл. 7. Результаты клинической оценки для *ultraView Universal DAB Detection Kit* в сравнении с *VIEW DAB Detection Kit* при использовании прибора BenchMark XT.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный	91	14	105
Отрицательный	2	86	88
Всего	93	100	193
	n/N	% (95 % CI)	

ultraView Universal DAB Detection Kit	VIEW DAB Detection Kit		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Процент совпадения положительных результатов	91/93	97.8 (92.5–99.4)	
Процент совпадения отрицательных результатов	86/100	86.0 (77.9–91.5)	
Общий процент совпадения	177/193	91.7 (87.0–94.8)	

Уровень совпадения результатов клинической оценки при использовании разных наборов для детекции для обоих приборов был выше 90 %, а именно 93.3 % (n = 193) и 91.7 % (n = 193), для приборов BenchMark ULTRA и BenchMark XT, соответственно. Сравнительное исследование наборов для детекции ultraView Universal DAB Detection Kit и VIEW DAB продемонстрировало показатели совпадения оценок окрашивания 90.2 % (n = 193) и 85.5 % (n = 193).

Сравнительное исследование приборов BenchMark ULTRA и BenchMark ULTRA PLUS

Проводилось исследование с целью сравнения качества окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA PLUS в сравнении с прибором BenchMark ULTRA. Сто тридцать четыре (134) случая ткани карциномы молочной железы (61 PR-положительный, 61 PR-отрицательный и 12 PR погранично положительный), представляющие клинический диапазон анализа. Окрашенные препараты оценивались врачами-патологоанатомами, которые определяли процент окрашенных опухолевых клеток. Образец считался PR-положительным, если в нем наблюдалось окрашивание ядер не менее $\geq 1\%$ клеток инвазивной опухоли.⁹ Данные прямого сравнения приборов BenchMark ULTRA и BenchMark ULTRA PLUS по PR-положительному и PR-отрицательному статусу представлены в Табл. 8.

Табл. 8. Качество окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA PLUS в сравнении с окрашиванием CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA (за исключением погранично положительных случаев).

Прибор BenchMark ULTRA PLUS	Прибор BenchMark ULTRA		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный	79	2	81
Отрицательный	6	23	29
Всего	85	25	110
	n/N	% (95 % CI)	
Процент совпадения положительных результатов	79/85	92.9 (85.4–96.7)	
Процент совпадения отрицательных результатов	23/25	92.0 (75.0–97.8)	
Общий процент совпадения	102/110	92.7 (86.3–96.3)	

Показатель морфологической приемлемости для всех препаратов, окрашивание которых выполнялось в рамках этого исследования, составил 100.0 % (95 % ДИ 97.2–100.0 %) для прибора BenchMark ULTRA PLUS. Показатель приемлемости фонового окрашивания составил 100.0 % (95 % ДИ 97.2–100.0 %) для прибора BenchMark ULTRA PLUS.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Сравнение антител CONFIRM anti-PR (1E2) с FLEX anti-PR (PgR 636).

Проводилось рандомизированное многоцентровое исследование с участием большого количества экспертов с целью сравнения качества окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборах BenchMark ULTRA и BenchMark XT в сравнении с антителами Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR (PgR 636)) на Dako Autostainer Plus. На приборах BenchMark IHC/ISH эндогенный биотин блокировался с помощью

VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit. Детекция антител осуществлялась с помощью VIEW DAB Detection Kit. На платформе Dako детекция антител осуществлялась с помощью EnVision Flex (детекция при High pH). Приблизительно 120 отрицательных и 216 положительных образцов тканей рака молочной железы, соответствующих клиническому диапазону метода анализа, случайным образом назначались трем исследовательским центрам таким образом, что каждый центр получил одинаковое количество образцов и каждый центр получил образцы, представляющие каждую из категорий клинической оценки. Специалисты каждого исследовательского центра окрашивали полученные образцы антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA, антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark XT и антителами FLEX anti-PR (PgR 636) на приборе Dako Autostainer Plus. Окрашенные препараты оценивались врачами-патологоанатомами, которые определяли процент окрашенных опухолевых клеток. Образец считался PR-положительным, если в нем наблюдалось окрашивание ядер не менее $\geq 1\%$ клеток инвазивной опухоли.⁹

Табл. 9. Антитела CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA в сравнении с антителами FLEX anti-PR (PgR 636) на приборе Dako Autostainer Plus.

Антитела CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный:	200	7	207
Отрицательный:	9	104	113
Всего:	209	111	320
	n/N	% (95 % CI)	
Процент совпадения положительных результатов	200/209	95.7 (92.0–97.7)	
Процент совпадения отрицательных результатов	104/111	93.7 (87.6–96.9)	
Общий процент совпадения	304/320	95.0 (92.0–96.9)	

Табл. 10. Антитела CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark XT в сравнении с антителами FLEX anti-PR (PgR 636) на приборе Dako Autostainer Plus.

Антитела CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный:	186	9	195
Отрицательный:	18	100	118
Всего:	204	109	313
	n/N	% (95 % CI)	
Процент совпадения положительных результатов	186/204	91.2 (86.5–94.3)	
Процент совпадения отрицательных результатов	100/109	91.7 (85.0–95.6)	
Общий процент совпадения	286/313	91.4 (87.7–94.0)	

Для окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборах BenchMark ULTRA и BenchMark XT в сравнении с антителами FLEX anti-PR (PgR 636) на Dako Autostainer Plus показатели совпадения положительных результатов, совпадения отрицательных результатов и общий процент совпадения (для всей совокупности исследовательских центров) были выше 90 %.

Табл. 11. Качество окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA в сравнении с окрашиванием CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark XT.

Прибор BenchMark ULTRA	Прибор BenchMark XT		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный:	184	12	196
Отрицательный:	6	105	111
Всего:	190	117	307
	n/N	% (95 % CI)	
Процент совпадения положительных результатов	184/190	96.8 (93.3–98.5)	
Процент совпадения отрицательных результатов	105/117	89.7 (82.9–94.0)	
Общий процент совпадения	289/307	94.4 (90.9–96.3)	

Для окрашивания антителами CONFIRM anti-PR (1E2) на приборе BenchMark ULTRA в сравнении с прибором BenchMark XT показатели совпадения положительных результатов, совпадения отрицательных результатов и общий процент совпадения были выше 89 %.

Показатель морфологической приемлемости для всех препаратов, окрашивание которых выполнялось в рамках этого исследования, составил 99.7 % (95 % ДИ 98.3–99.9 %) для прибора BenchMark ULTRA и 96.1 % (95 % ДИ 93.5–97.7 %) для прибора BenchMark XT. Показатель приемлемости фона составил 99.4 % (95 % ДИ 97.9–99.8 %) для прибора BenchMark ULTRA и 95.2 % (95 % ДИ 92.4–97.0 %) для прибора BenchMark XT.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

1. Если положительный контроль дает окрашивание слабее ожидаемого, проверьте остальные положительные контроли, исследуемые одновременно с ним, чтобы определить, связано ли это с первичными антителами или с одним из применяемых обычно вторичных реагентов.
2. Если положительный контроль дает отрицательный результат, проверьте правильность этикетки со штрихкодом на предметном стекле. Если предметное стекло имеет надлежащую этикетку, проверьте остальные положительные контроли, исследуемые одновременно, чтобы определить, связана ли проблема с первичными антителами или с одним из применяемых обычно вторичных реагентов. Возможно, ткани неправильно собирались, фиксировались или депарафинизировались. Соблюдайте методику забора, хранения и фиксации образцов.
3. При избыточном фоновом окрашивании возможно присутствие больших количеств эндогенного биотина. Следует включить в процедуру этап блокировки биотина.
4. Если парафин удален не полностью, повторите процедуру депарафинизации.
5. Если окрашивание специфическими антителами слишком интенсивное, повторите цикл, сокращайте время инкубации с первичными антителами на 4-минуты, пока не будет достигнута нужная интенсивность окрашивания.
6. Если срезы ткани смываются с предметного стекла, проверьте предметные стекла и убедитесь, что они имеют положительный заряд.
7. Способы устранения проблем см. в разделе «Позтапная процедура», руководстве пользователя прибора или обратитесь к представителю региональной службы поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kariagina A, Aupperlee MD, Haslam SZ. Progesterone receptor isoform functions in normal breast development and breast cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2008;18(1):11-33.
2. Grimm SL, Hartig SM, Edwards DP. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. *J Mol Biol*. 2016;428(19):3831-3849.

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. Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(4):444-457.
5. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019.
6. 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.
7. Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. *Rev Endocr Metab Disord*. 2007;8(3):229-239.
8. Horwitz KB, McGuire WL. Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. *Science*. 1975;189(4204):726-727.
9. 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.
10. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, et al. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol*. 2003;21(10):1973-1979.
11. Ravdin PM, Green S, Dorr TM, et al. Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 1992;10(8):1284-1291.
12. Carson FL, Cappellano C. *Histotechnology; A Self-Instructional Text*, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
13. Occupational Safety and Health Standard: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
14. 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.
15. Roche PC, His ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
16. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2010.
17. 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.
18. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med*. 1983;14:767.
19. Press MF, Greene GL. Localization of progesterone receptor with monoclonal antibodies to the human progesterone receptor. *Endocrinology*. 1988;122(3):1165-1175.
20. Herman GE, Elfant EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem*. 1991;66(4):194-199.
21. 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.
22. Guadagno E, De Rosa G, Nappi O. A National Quality Assurance Program for Breast Immunohistochemistry: An Italian Perspective. *Pathologica*. 2018;110(2):83-91.
23. Money SR, Muss W, Thelmo WL, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterone receptors in human thyroid. *Surgery*. 1989;106(6):975-8.

ПРИМЕЧАНИЕ. В настоящем документе в дробных числах в качестве границы, отделяющей десятичные знаки от целого, всегда используется точка. Разделители для тысяч не используются.

Сводную информацию о безопасности и эксплуатационных характеристиках можно найти по адресу:

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

Символы

Компания Ventana использует следующие символы и знаки в дополнение к указанному в стандарте ISO 15223-1 (для USA: более подробную информацию см. на веб-сайте elabdoc.roche.com/symbols).

GTIN

Глобальный номер товара

Rx only

Для USA: Внимание Федеральное законодательство разрешает продажу этой продукции только медицинским работникам или по их заказу.

ИСТОРИЯ РЕДАКЦИЙ

Ред.	Обновления
Н	Исправление в ссылке на Таблицу 8. Обновлен текущий шаблон.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM и ULTRAVIEW являются товарными знаками компании Roche. Все остальные наименования продуктов и товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



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

www.roche.com



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

