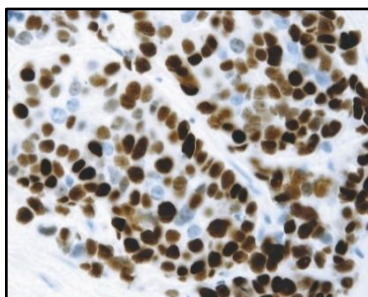


CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-2223 Σ 50
05277990001

REF 790-4296 Σ 250
05278392001

IVD



Figur 1. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistofffarging av duktalt brystkarsinom.

TILTENKT BRUK

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody skal brukes på laboratorier i den kvalitative påvisningen av progesteronreseptorantigen (PR-antigen) i formalinfikserte, parafininnstøpte vevssnitt på VENTANA automatisk objektglassfargemaskin med VENTANA-deteksjonskit og tilleggsgreagenser. CONFIRM anti-PR (1E2) er rettet mot en epitop som finnes på humant progesteronreseptorprotein lokalisert i kjernen av PR-positive

normale og neoplastiske celler. CONFIRM anti-PR (1E2) er indisert som et hjelpemiddel i behandlingen, prognosen og prediksjonen av hormonbehandling mot brystkarsinom.

Dette produktet skal tolkes av en kvalifisert patolog i sammenheng med en histologisk undersøkelse, relevant klinisk informasjon og egnede kontroller.

Reseptbelagt.

Dette antistoffet er beregnet til in vitro-diagnostisk bruk (IVD).

SAMMENDRAG OG FORKLARING

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff) er et monoklonalt antistoff fra kanin som gjenkjenner A- og B-isoformene av human progesteronreseptor (PR). Immunogenet ble utviklet fra et syntetisk peptid som ble identifisert som et område med potensielt høy antigenisitet som er felles for progesteronreseptor A- og B-former. Peptidet ble syntetisert og kovalent bundet til KLH (keyhole limpet hemocyanin) for ytterligere å øke antigenisiteten.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff har blitt vist å reagere med 60 kD, 87 kD og 110 kD proteiner fra T47D-celler via Western blotting-metoder. Størrelsene på proteinet er i samsvar med den predikerte molekylvekten av progesteronreseptor type A, B og C.¹

PR er en nukleær hormonreseptor kodet av ett gen (PGR).^{1,2} PR-aktivitet reguleres av den nært beslektede nukleære hormonreseptoren østrogenreseptor (ER). De koordinerte virkningene til ER og PR driver normal utvikling av brystkjertler og er nødvendige for differensiering og proliferasjon i brystepitel hos voksne.^{1,2,3}

Brystkreft er den ledende årsaken til kreftrelatert dødsfall hos kvinner.⁴ Diagnostiseringen og behandlingen av sykdommen er avhengig av tidlig påvisning kombinert med en pålitelig strategi for å gi pasienter riktig behandling basert på prognostiske og prediktive faktorer.^{5,6} Den etablerte diagnostiseringen av brystkreft er en kombinasjon av fysisk undersøkelse, bildebehandling og patologisk evaluering.⁵

ER er en av paradigmatumormarkørene for behandling av brystkreftpasienter. Kliniske retningslinjer og anbefalinger om beste praksis fastslår at ER-status bør evalueres i alle tilfeller av primær invasiv brystkreft for å identifisere pasienter som mest sannsynlig vil respondere på endokrine behandlingsformer.^{5,6} Selektive østrogenreseptormodulatorer blokkerer østrogenmediert kreftvekst ved å redusere ER-hyperaktivitet og brukes som endokrin behandling for pasienter som overuttrykker reseptoren.^{6,7}

I praksis responderer nesten halvparten av ER-positive pasienter ikke på endokrin behandling, et fenomen som er knyttet til malign transformasjon av reseptoren i kreftlesjoner.⁸ PR-overuttrykk kan brukes til å karakterisere brystsvulsten ytterligere og

forutsi behandlingsrespons ved å fungere som en reporter for å evaluere den funksjonelle statusen til ER.^{8,9} I 1975 ble det antatt at overuttrykk av PR kan være en prediktiv markør for respons på endokrin behandling.⁸ Senere studier har bekreftet den prediktive og prognostiske verdien av PR.^{10,11} Et høyere nivå av PR-uttrykk er en indikator på bedre respons på endokrin behandling.¹⁰

Påvisning av PR er en hjørnestein i behandlingen av pasienter med invasiv brystkarsinom.^{5,6,9} Retningslinjer og anbefalinger om beste praksis understreker at immunhistokjemi (IHC) er den foretrukne metoden for å påvise PR i brystkreft.⁹ Derfor kan IHC-basert påvisning av PR med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff brukes som et hjelpemiddel i behandling, prognose og prediksjon av behandlingsresultat av brystkreft.

PROSEDYREPRINSIPP

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet bindes til PR i formalinfikserte, parafininnstøpte (FFPE) vevssnitt. Det spesifikke antistoffet kan lokaliseres av enten et biotinkonjugert sekundært antistoffpreparat som gjenkjenner immunglobuliner fra kanin, etterfulgt av tilsetning av et streptavidin-pepperrotperoksidase-konjugat (HRP)-konjugat (VIEW DAB Detection Kit) eller et sekundært antistoff-HRP-konjugat (ultraView Universal DAB Detection Kit). Det spesifikke antistoff-enzymkomplekset visualiseres deretter med et presipiterende enzymreaksjonsprodukt.

Kliniske kasus bør evalueres i sammenheng med ytelsen til egnede kontroller. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) anbefaler at det også analyseres en positiv vevskontroll fiksert og prosessert på samme måte som pasientprøven (for eksempel et svakt positivt brystkarsinom eller livmor). I tillegg til farging med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff skal et annet objektglass farges med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. For at testen skal anses som gyldig, må det positive kontrollvevet vise kjernefarge i tumorcellene eller uterine kjertler og stroma. Disse komponentene skal være negative når de er farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Det anbefales i tillegg at et objektglass med negativ vevskontroll (for eksempel et PR-negativt brystkarsinom) inkluderes for hver prøve-batch som prosesseres og kjøres på BenchMark IHC/ISH-instrumentet. Denne negative vevskontrollen bør farges med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff for å sikre at antigenforsterkningen og andre forbehandlingsprosedyrer ikke ga falskt positiv farging.

MEDFØLGENDE MATERIALER

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff (kat. nr. 790-2223) inneholder tilstrekkelig reagens til 50 tester.

En 5 mL dispenser CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff inneholder ca. 5 µg med et monoklonalt antistoff fra kanin rettet mot humant PR-antigen.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff (kat. nr. 790-4296) inneholder tilstrekkelig reagens til 250 tester.

En 25 mL dispenser CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff inneholder ca. 25 µg med et monoklonalt antistoff fra kanin rettet mot humant PR-antigen.

Antistoffet fortynnes i Tris-HCl med transportprotein og 0.1 % ProClin 300, et konserveringsmiddel. Det er spor av (~ 0.2 %) føtalt kalveserum av amerikansk opphav fra stamløsningen.

Spesifikk antistoffkonsentrasjon er ca. 1 µg/mL. Det er ikke observert noen kjent ikke-spesifikk antistoffreaktivitet i dette produktet.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff er et monoklonalt antistoff fra kanin som produseres som en cellekultursupernatant.

Se aktuelt metodeark for VENTANA-deteksjonskit for detaljerte beskrivelser av: Prosedyreprinsipp, Materialer og metoder, Prøvetaking og klargjøring for analyse, Prosedyre for kvalitetskontroll, Feilsøking, Tolkning av resultater og Begrensninger.

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE MEDFØLGER

Fargereagenser som VENTANA-deteksjonskit og tilleggskomponenter, herunder objektglass med negativ og positiv vevskontroll, medfølger ikke.

Ikke alle produkter som er oppgitt i metodearket, er tilgjengelige i alle markeder. Kontakt lokal brukerstøtte.

Følgende reagenser og materialer vil kunne være påkrevd til farging, men følger ikke med:

1. Anbefalt kontrollvev
2. Objektglass for mikroskop, positivt ladet
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (kat. nr. 760-1029 / 05266238001)
4. View DAB Detection Kit (kat. nr. 760-091 / 05266157001)
5. Endogenous Biotin Blocking Kit (kat. nr. 760-050 / 05266092001)
6. ultraView Universal DAB Detection Kit (kat. nr. 760-500 / 05269806001)

7. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. nr. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. nr. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (kat. nr. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (kat. nr. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning 1 (CC1) (kat. nr. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (kat. nr. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (kat. nr. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (kat. nr. 760-2037 / 05266769001)
15. BenchMark IHC/ISH-instrument
16. Laboratoriestyr til generelle formål

OPPBEVARING OG STABILITET

Ved mottak, og når det ikke er i bruk, må det oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses. For å sikre korrekt tilførsel av reagenser og stabilitet av antistoffet skal dispenserlokket settes på igjen og dispenseren umiddelbart settes i kjøleskapet i stående posisjon etter hver kjøring.

Hver antistoffdispenser har en utløpsdato. Når reagenset oppbevares på riktig måte, er det stabilt frem til datoen som står på etiketten. Reagenset skal ikke brukes etter utløpsdatoen.

KLARGJØRING AV PRØVEN

Rutinemessig prosesserte FFPE-vev egner seg til bruk med dette primære antistoffet når det brukes sammen med VENTANA-deteksjonskit og BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Følgende trinn anbefales for prosessering av prøver.¹²

Plasser prøven i 10 % nøytralt bufret formalin. Den anvendte mengden er 15 til 20 ganger vevets volum. Ingen fiksativer penetrerer mer enn 2 til 3 mm fast vev eller 5 mm porøst vev i en 24-timers periode. Et vevssnitt på 3 mm eller mindre bør fikseres i minst 4 timer og høyst 8 timer. Fiksering kan utføres ved romtemperatur (15–25 °C).

Etter fiksering plasseres prøven i et vevsprosseringsinstrument for klargjøring natten over. Denne prosesseringen består av dehydrering av prøven med alkoholer, etterfulgt av klaringsreagenser for å fjerne alkoholer og til slutt infiltrering med parafin.

Prøver innstøpes i parafin i vevskassetter, og snitt på ca. 4 µm tykkelse skjæres ut, midtstilles og legges på objektglassene. Objektglassene skal være Superfrost Plus eller tilsvarende. Vevet skal lufttørkes ved å plassere objektglassene i romtemperatur natten over eller i en ovn ved 60 °C i 30 minutter.

Objektglass skal farges umiddelbart, da antigenisitet for avskårne vevssnitt kan minke over tid. Be din Roche-representant om en kopi av «Recommended Slide Storage and Handling» for mer informasjon.

Det anbefales at positive og negative kontroller kjøres samtidig med ukjente prøver.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Til in vitro-diagnostisk bruk (IVD).
2. Kun til profesjonell bruk.
3. Skal ikke brukes utover det spesifiserte antallet tester.
4. ProCin 300-løsning brukes som konserveringsmiddel i dette reagenset. Det er klassifisert som irriterende stoff og kan forårsake sensibilisering ved hudkontakt. Ta rimelige forholdsregler ved håndtering. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne, hud og slimhinner. Bruk vernetøy og hansker.
5. Dette produktet inneholder 1 % eller mindre bovin serum som brukes i produksjonen av antistoffet.
6. Positivt ladede objektglass kan være følsomme for miljøpåvirkning, noe som kan føre til feilaktig farging. Be Roche-representanten om mer informasjon om hvordan du bruker disse objektglasstypene.
7. Materialer av menneskelig eller animalsk opprinnelse skal håndteres som smittefarlig biologisk materiale og avhendes med korrekte prosedyrer. Dersom en person har vært utsatt for slikt materiale, skal helsedirektivene fra myndighetene følges.^{13,14}
8. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne og slimhinner. Hvis reagenser kommer i kontakt med sensitive områder, må du skylle med rikelige mengder vann.
9. Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagenser, da det kan gi feil resultater.
10. Hvis du vil ha mer informasjon om bruken av denne enheten, kan du se brukerhåndboken for BenchMark IHC/ISH-instrumentet og bruksanvisningen for alle nødvendige komponenter som finnes på navifyportal.roche.com.

11. Rådfør deg med lokale og/eller nasjonale myndigheter når det gjelder anbefalte metoder for avfallshåndtering.
12. Produktsikkerhetsmerking følger primært EU GHS-veiledningen. Sikkerhetsdataark er tilgjengelige for profesjonelle brukere på anmodning.
13. Hvis du trenger å rapportere mistenkte alvorlige hendelser knyttet til denne enheten, kontakter du den lokale Roche-representanten og ansvarlig myndighet i medlemslandet der brukeren holder til.

Dette produktet inneholder komponenter som er klassifisert som følger, i samsvar med forordning (EF) nr. 1272/2008:

Tabell 1. Informasjon om farer.

Fare	Kode	Setning
	H317	Kan gi en allergisk hudreaksjon.
	H412	Skadelig for vannlevende organismer, med langtidsvirkninger.
	P261	Unngå å puste inn tåke eller damp.
	P273	Unngå utslipp til miljøet.
	P280	Benytt vernehansker.
	P333 + P313	Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp.
	P362 + P364	Tilsøt klær tas av og vaskes før de brukes igjen.
	P501	Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.

Dette produktet inneholder CAS-nr. 55965-84-9, en reaksjonsmasse av: 5-klor-2-metyl-2H-isotiazolin-3-on og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1).

FARGINGSPROSEDYRE

VENTANA primære antistoffer er utviklet for bruk på et BenchMark IHC/ISH-instrument sammen med VENTANA-deteksjonskit og -tilbehør. Se Tabell 2 og Tabell 3 for anbefalte fargeprotokoller.

Dette antistoffet er optimalisert for spesifikke inkubasjonstider, men brukeren må validere resultatene som oppnås med dette reagenset.

Parametrene for de automatiserte prosedyrene kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til prosedyren i instrumentets brukerhåndbok. Se aktuelt metodeark for VENTANA-deteksjonskit for mer informasjon om immunhistokjemiske fargingsprosedyrer.

For mer informasjon om riktig bruk av denne enheten, se metodearket for inline-dispenseren med delenr. 790-4509 eller 790-4296.

Verifisering og validering av den anbefalte fargeprotokollen for hvert deteksjonskit er vist gjennom designkontrolltesting og resultater av kliniske studier.

All endring av den anbefalte fargingsprosedyren annullerer ytelsesegenskapene som er oppgitt i dette metodearket. Brukeren må validere all endring av anbefalt fargingsprosedyre.

Tabell 2. Anbefalt fargeprotokoll for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff med *ultraView* Universal DAB Detection Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Prosedyretype	Metode	
	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS
Avparafinisering	Valgt	Valgt
Cell Conditioning (antigenavmaskering)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
Antistoff (primært)	16 minutter, 37 °C	16 minutter, 36 °C
Kontrastfarge (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 minutter	Hematoxylin II, 4 minutter
Etter kontrastfarging	Bluing, 4 minutter	Bluing, 4 minutter

Tabell 3. Anbefalt fargeprotokoll for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff med M/IEW DAB-deteksjonskit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Prosedyretype	Metode	
	XT	ULTRA
Avparafinisering	Valgt	Valgt
Cell Conditioning (antigenavmaskering)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
Antistoff (primært)	16 minutter, 37 °C	16 minutter, 36 °C
A/B-blokk (biotinblokkering)	Påkrevd	Påkrevd
Kontrastfarge	Hematoxylin II, 4 minutter	Hematoxylin II, 4 minutter
Etter kontrastfarging	Bluing, 4 minutter	Bluing, 4 minutter

PROSEDYRE FOR KVALITETSKONTROLL

Positiv vevskontroll

Optimal laboratoriepraksis er å inkludere et positivt kontrollsnitt på samme objektglass som testvevet. Dette hjelper til med å identifisere eventuelle feil ved bruk av reagenser på objektglasset. Vev med svakt positiv farging vil være mer egnet for kvalitetskontroll.

Kjent positive vevskontroller bør kun benyttes for å overvåke ytelsen til reagenser og instrumenter, ikke som hjelpemiddel ved bestemmelse av spesifikk diagnostikk av testprøver. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør resultater med testprøven anses som ugyldige.

En positiv vevskontroll må kjøres med hver fargingsprosedyre som utføres. CAP anbefaler at en positiv vevskontroll skal plasseres på pasientobjektglasset.⁹ Et eksempel på vev som brukes som en positiv kontroll med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff, er et svakt positivt brystkarsinom. De positivt fargede cellene eller vevskomponentene (kjernefarging av kreftceller) brukes til å bekrefte at CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet ble brukt, og at instrumentet fungerte riktig. Dette vevet kan inneholde både positive og negative fargede celler eller vevskomponenter og kan fungere både som det positive og negative kontrollvevet. Kontrollvev skal være ferske prøver fra nylig foretatt obduksjon, biopsi eller operasjon klargjort eller fiksert så snart som mulig på en måte som er identisk med testsnittene. Slikt vev kan overvåke alle trinn i prosedyren, fra vevspreparering til farging. Bruk av et vevssnitt som er fiksert eller prosessert på en annen måte enn testprøven, gir kontroll for alle reagenser og metodetrinn bortsett fra fiksering og vevsprosessering.

Et vev med svakt positiv farging er mer egnet enn sterkt positiv farging for optimal kvalitetskontroll og for å påvise mindre nivåer av reagensdegradering. Ideelt sett bør brystkarsinomvev, som er kjent for å ha svak, men positiv farging, velges for å sikre at systemet er sensitivt for små mengder med reagensdegradering eller problemer med IHC-metoden.

Normalt humant proliferativt endometrium kan også brukes for en positiv kontroll. De positive fargingskomponentene er kjernefarge for kjertelepitel, og stromale og glatte muskelceller. Endometrialt vev vil derimot kanskje ikke farge svakt nok til å påvise små mengder med reagensdegradering eller problemer med IHC-metoden.

Negativ vevskontroll

Bruk en vevskontroll som er kjent å være fiksert, behandlet og innstøpt på en måte som er identisk med pasientprøven(e) med hver fargekjøring for å bekrefte spesifisiteten til CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff for påvisning av PR, og for å gi en indikasjon på spesifikk bakgrunnsfarging (falskt positiv farging). De mange ulike celletypene i de fleste vevssnitt kan også brukes av laboratoriet som intern negativ kontroll for å verifisere CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffets ytelseesspesifikasjoner. For eksempel kan noe vev (endometrium) som brukes til positiv vevskontroll, også brukes som negativ vevskontroll. Komponentene som ikke farges (cytoplasma, cellemembran), bør vise fravær av spesifikk farging i celler som man ikke forventer vil farges, og gi en indikasjon på spesifikk bakgrunnsfarging. Den negative vevskontrollen bør også brukes som hjelpemiddel i tolkning av resultater. Variasjonen i forskjellige celletyper som finnes i de fleste vevssnitt, vil ofte kunne fungere som negativ kontroll, men dette bør bekreftes av brukeren. Hvis spesifikk farging forekommer på de negative vevskontrollene, bør resultater med pasientprøvene anses som ugyldige.

Negativ reagenskontroll

En negativ reagenskontroll må kjøres for hver prøve som et hjelpemiddel i tolkning av resultatene. En negativ reagenskontroll brukes i stedet for det primære antistoffet for å evaluere ikke-spesifikk farging og gi mulighet for bedre tolkning av spesifikk farging på antigenstedet. Dette gir en indikasjon på ikke-spesifikk bakgrunnsfarging for hvert objektglass. I stedet for det primære antistoffet farges objektglasset med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, renset, ikke-immunt IgG fra kanin som ikke reagerer med humane prøver. Hvis det benyttes en annen negativ reagenskontroll, skal denne fortynnes til samme konsentrasjon som det primære antistoffets antiserum med VENTANA Antibody Diluent. Ca. 0.2 % føtalt kalveserum beholdes i CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet. Tilsetning av 0.2 % føtalt kalveserum i VENTANA Antibody Diluent er også egnet for bruk som en ikke-spesifikk negativ reagenskontroll. Inkubasjonsperioden for den negative reagenskontrollen skal være lik inkubasjonsperioden for det primære antistoffet.

Når paneler med flere antistoffer brukes på serielle snitt, kan en negativ reagenskontroll på ett objektglass fungere som en negativ eller ikke-spesifikk bindende bakgrunnskontroll for andre antistoffer.

Analyseverifisering

Før første bruk av dette antistoffet i en diagnoseprosedyre, eller hvis det er endring av lot-nummer, bør antistoffets spesifisitet verifiseres ved farging av en rekke positive og negative vev med kjente ytelsesegenskaper. Se prosedyren for kvalitetskontroll som er skissert tidligere i denne delen av produktvedlegget, og anbefalingene for kvalitetskontroll fra College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, eller CLSI Approved Guideline eller begge dokumenter.^{16,17} Disse prosedyrene for kvalitetskontroll bør gjentas for hver nye antistoff-lot eller når det skjer en endring i lot-nummer på et av reagensene i et matchet sett eller en endring i analyseparametrene. Kvalitetskontroll kan ikke utføres på en meningsfull måte på en enkelt reagens isolert sett, siden de matchende reagensene, sammen med en definert analyseprotokoll, må testes sammen før man kan bruke et sett til diagnostiske formål. Vev som er oppgitt i Sammendrag av forventede resultater, er egnet for analyseverifisering.

Alle krav til kvalitetskontroll bør utføres i samsvar med lokale, statlige og nasjonale forskrifter eller akkrediteringskrav.

FARGINGSTOLKNING / FORVENTEDE RESULTATER

Fargingsprosedyren fører til at det dannes et farget reaksjonsprodukt som presipitert på antigenstedene lokalisert av CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff. En kvalifisert patolog med erfaring fra IHC-prosedyrer må evaluere positive og negative kontroller og kvalifisere det fargede produktet for tolkning. Progesteronreseptorstatus bestemmes av prosentandelen av fargede tumorceller. Et tilfelle anses som PR-positivt hvis det er farging av kjernen i 1 % eller flere av tumorcellene.⁹

Positiv vevskontroll

Den positive vevskontrollen farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff bør undersøkes først for å sikre at alle reagenser fungerer som de skal. Forekomsten av et brunt (3,3'-diaminobenzidin-tetraklorid, DAB) reaksjonsprodukt i kjernen i målcellene tyder på positiv reaktivitet på et vev som kan brukes som en positiv kontroll, er kjent svakt positivt brystkarsinom, f.eks. $\geq 1\%$. Kjernene i tumorcellene skal være positive. Det er avgjørende at kun kjernefarge anses som positiv for at en falskt positiv tolkning skal unngås. Normalt humant endometrium kan også brukes. I normalt endometrium observeres PR-farging i kjernene i de endometriske kjertlene og stroma. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser riktig positiv farging, bør resultater med testprøvene anses som ugyldige.

Negativ vevskontroll

Den negative vevskontrollen skal undersøkes etter den positive vevskontrollen for å verifisere det primære antistoffets spesifikke merking av målantigenet. Fravær av spesifikk farging i den negative vevskontrollen bekrefter manglende antistoff-kryssreaktivitet til celler eller cellekomponenter. Brystkarsinom som brukes som positiv kontroll, kan også brukes som et negativt kontrollvev. Enkelte stromale elementer som er kjent PR-negative, for eksempel endotelceller, skal ikke vise kjernefarge. Hvis det forekommer spesifikk farging i den negative vevskontrollen, skal resultater med pasientprøven betraktes som ugyldige.

Ikke-spesifikk farging, hvis dette forekommer, har diffust utseende. Sporadisk lys farging i bindevev vil også kunne observeres i vevssnitt som er fiksert i for mye formalin. Intakte celler skal brukes for tolkning av fargingsresultater, da nekrotiske eller degenererte celler ofte vil bli ikke-spesifikt farget.¹⁸

Pasientvev

Pasientprøver som er farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff, skal undersøkes sist. Positiv fargingsintensitet bør evalueres i sammenheng med ikke-spesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen PR kan påvises blant andre neoplasmer, f.eks. kreft i eggstokker og endometrium.¹⁹ Morfologien til hver vevsprøve bør også undersøkes ved å benytte et snitt som er farget med hematoxylin og eosin, ved tolkning av et immunhistokjemisk resultat. Pasientens morfologiske funn og relevante kliniske data må tolkes av en kvalifisert patolog. Se Sammendrag og forklaring, Begrensninger og Sammendrag av forventede resultater for spesifikk informasjon om immunreaktivitet.

BEGRENSNINGER

Generelle begrensninger

1. IHC er en diagnostisk prosess med flere trinn som forutsetter spesialisert opplæring i valg av riktige reagenser og vev, fiksering, prosessering, klargjøring av objektglasset til immunhistokjemi og tolkning av fargingsresultatene.
2. Vevsfarging avhenger av håndteringen og behandlingen av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminasjon med annet vev eller andre væsker kan frembringe artefakter, antistoffansamling eller falskt negative resultater. Inkonsekvante resultater kan være en konsekvens av variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder, eller fra uregelmessigheter i vevet.
3. For mye eller for lite kontrastfarge kan påvirke korrekt tolkning av resultater.
4. Klinisk tolkning av positiv farging, eller fraværet av dette, må evalueres i lys av sykehistorie, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Klinisk tolkning av farging, eller fraværet av dette, må suppleres med morfologiske undersøkelser og riktige kontroller i tillegg til andre diagnostiske tester. Dette antistoffet skal brukes i et panel av antistoffer. Det er en kvalifisert patologs ansvar å være kjent med antistoffene, reagensene og metodene som brukes til å produsere det fargede preparatet. Farging må utføres i et sertifisert, lisensiert laboratorium under tilsyn av en patolog som er ansvarlig for gjennomgang av de fargede objektglassene, og som kontrollerer at de positive og negative kontrollene er tilstrekkelige.
5. Ventana leverer antistoffer og reagenser ved optimal fortynning til bruk når de medfølgende anvisningene følges. Alle avvik fra anbefalte testprosedyrer kan gjøre forventede resultater ugyldige. Egnede kontroller må implementeres og dokumenteres. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer, må ta ansvar for tolkning av pasientresultater.
6. Dette produktet er ikke beregnet på bruk i flowcytometri, da ytelseegenskaper ikke er fastslått.
7. Reagenser kan fremvise uventede reaksjoner i vevstyper som ikke har vært testet tidligere. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke elimineres helt på grunn av biologisk variabilitet av antigenekspresjon i neoplasmer, eller andre patologiske vev.²⁰ Kontakt lokal brukerstøtte med dokumenterte uventede reaksjoner.
8. Vev fra personer som er smittet med hepatitt B-virus, som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg), kan vise ikke-spesifikk farging med pepperrotperoksidase.²¹
9. Ved bruk i blokkerende trinn kan normale sera fra den samme animalske kilden som de sekundære antisera, forårsake falskt negative eller falskt positive resultater på grunn av autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
10. Falskt positive resultater kan ses på grunn av immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan være forårsaket av pseudoperoxidase-aktivitet (erytrocytter), endogen peroksidaseaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (eksempel: lever, hjerte, bryst, nyre) avhengig av hvilken type immunfarge som brukes.¹⁸
11. Som med alle IHC-tester betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet er fraværende i cellene eller vevet som ble analysert.

Spesifikke begrensninger

1. Når antistoffet brukes i kombinasjon med VENTANA-deteksjonskit og tilbehør, påviser det antigen som overlever rutinemessig formalinfiksering, vevsprosessering og snitting. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer, er ansvarlige for tolkning og validering av pasientresultater.
2. Et negativt resultat for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff utelukker ikke forekomst av PR. Negative reaksjoner i brystkarsinomer kan skyldes tap eller markert reduksjon

av uttrykk av antigen. Derfor anbefales det at dette antistoffet brukes i et panel med antistoffer som inkluderer østrogenreseptor.

3. Positiv kjernefarging med antistoffklon 1E2 har blitt observert i tonsillvev.²² Tonsillvev er ikke indisert for bruk med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff. Hvis tonsillvev brukes som en negativ vevskontroll, skal tonsillvevet derfor screenes for å sikre at det velges et negativt fargingstilfelle.

Alle analyser vil kanskje ikke registreres på hvert instrument. Kontakt den lokale Roche-representanten for mer informasjon.

YTELSESEGNSKAPER

ANALYTISK YTELSE

Det ble gjennomført fargingstester for sensitivitet, spesifisitet og presisjon, og resultatene er oppført nedenfor.

Sensitivitet og spesifisitet

Sensitiviteten og spesifisiteten til CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff ble bestemt ved farging av flere typer normalt humant vev. Resultatene vises i Tabell 4 og Tabell 5. Positiv farging var nukleær i alle undersøkte vev, med ett tilfelle der eggstokkvev viste uventet negativ farging. Positiv farging av skjoldbruskkjertelvev ble observert, men dette har vært identifisert tidligere.²³ Positiv kjernefarge med antistoffklon 1E2 har blitt observert i tonsillvev.²²

Tabell 4. Sensitiviteten/spesifisiteten til CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff ble bestemt ved å teste normalt FFPE-vev.

Vev	Ant. positive / totale tilfeller	Vev	Ant. positive / totale tilfeller
Cerebrum	0/5	Spiserør	0/3
Cerebellum	0/3	Mage	0/3
Binyre	0/3	Tynntarm	0/3
Eggstokk	2/3	Kolon	0/3
Bukspyttkjertel	3/3	Lever	0/3
Biskjoldbruskkjertel	0/4	Spyttkjertel	0/3
Hypofyse	3/3	Nyre	0/3
Testis	0/3	Prostata	1/3
Tyreoid	0/5	Blære	0/5
Bryst ^a	4/4	Endometrium	1/3
Milt	1/3	Livmorhals	8/8
Tonsill	1/3	Skjelettmuskel	0/5
Tymus	0/3	Hud	0/3
Beinmarg	0/3	Nerve	0/3
Lunge	0/3	Mesotel	0/3
Hjerte	0/3		

^a Vev inkluderer fibrøst fettvev.

Immunreaktiviteten til CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff ble bestemt ved farging av flere typer neoplastisk humant vev. Tilfeller ble ansett som PR-positive hvis det var farging av kjernen i minst $\geq 1\%$ av invasive tumorceller.

Tabell 5. Sensitiviteten/spesifisiteten til CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff ble bestemt ved å teste en rekke neoplastiske FFPE neoplastisk vev.

Patologi	Ant. positive / totale tilfeller
Glioblastom (cerebrum)	0/1
Meningeom (cerebrum)	0/1

Patologi	Ant. positive / totale tilfeller
Ependymom (cerebrum)	0/1
Oligodendrogliom (cerebellum)	0/1
Serøst adenokarsinom (eggstokk)	1/1
Mucinøst adenokarsinom (eggstokk)	0/1
Nevroendokrin neoplasme (bukspyttkjertel)	1/1
Adenokarsinom (bukspyttkjertel)	0/1
Seminom (testikkel)	0/1
Embryonalt karsinom (testikkel)	0/1
Medullært karsinom (skjoldbruskkjertel)	1/1
Papillært karsinom (skjoldbruskkjertel)	0/1
Duktalt karsinom in situ (bryst)	1/1
Invasivt duktalt karsinom (bryst)	0/1
B-cellelymfom, NOS (milt)	0/1
Småcellet karsinom (lunge)	0/1
Plateepitelkarsinom (lunge)	0/1
Adenokarsinom (lunge)	0/1
Plateepitelkarsinom (spiserør)	0/1
Adenokarsinom (spiserør)	0/1
Mucinøst adenokarsinom (mage)	0/1
Adenokarsinom (tarm)	0/1
Adenokarsinom (kolon)	0/1
Malign blandet mesenkyml neoplasme (kolon)	0/1
Adenokarsinom (rektum)	0/1
Malign blandet mesenkyml neoplasme (rektum)	0/1
Melanom (rektum)	0/1
Hepatocellulært karsinom (lever)	0/1
Hepatoblastom (lever)	0/1
Klarcellet karsinom (nyre)	0/1
Adenokarsinom (prostata)	1/1
Urotelialt karsinom (prostataurinrør)	1/1
Leiomyom (livmor)	1/1
Adenokarsinom (livmor)	1/2
Klarcellet karsinom (livmor)	0/1
Plateepitelkarsinom (livmorhals)	1/1
Embryonalt rabdomyosarkom (tverrstripet muskel)	0/1
Plateepitelkarsinom (tverrstripet muskel)	0/1
Basalcellekarsinom (hud)	0/1
Nevrofibrom (mediastinum)	1/1
Nevroblastom (retroperitoneum)	1/1
Mesoteliom (peritoneum)	0/1
Hodgkins lymfom (lymfeknute)	0/1
Lymfom, NOS (lymfeknute)	0/2

Patologi	Ant. positive / totale tilfeller
B-cellelymfom, NOS (lymfeknute)	0/1
Urotelialt karsinom (blære)	0/1

Sensitivitet avhenger av konserveringen av antigenet. All feil vevshåndtering under fiksering, snitting, innstøping eller oppbevaring som endrer antigenisitet, vil svekke PR-påvisning med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff og kan generere falskt negative resultater.

BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumentpresisjon

Seks individuelle vev ble farget som en del av repeterbarhetstestingen. Av de seks vevene var det to som hadde høyt PR-uttrykk, to som hadde lavt PR-uttrykk og to som var PR-negative, basert på en terskelverdi på < 1 % farging av tumorceller for negative, 1–10 % for lavt uttrykk og > 10 % for høyt uttrykk.

For testing av repeterbarhet innenfor kjøring ble ni objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff og ett objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistoff på et BenchMark XT-instrument. Samme testkonfigurasjon ble også brukt på et BenchMark ULTRA-instrument. Repeterbarhet innenfor kjøring for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på både BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumentet var 100 % samsvarende med alle positive vev i alle seks tilfeller.

For testing av intermediær presisjon (dag til dag presisjon) ble fire objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff og ett objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistoff i fem separate ikke-etterfølgende kjøring utført over en periode på 20 dager på samme BenchMark XT-instrument. Samme testkonfigurasjon ble også brukt på et BenchMark ULTRA-instrument. Intermediær presisjon (dag til dag-presisjon) for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på både BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumentet var 100 % samsvarende for alle positive vev i alle seks tilfeller.

For testing av intermediær presisjon mellom BenchMark XT-instrumenter ble 4 objektglass fra seks tilfeller farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på tre forskjellige BenchMark XT-instrumenter. Ett enkelt objektglass fra hvert tilfelle ble farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistoff. Intermediær presisjon mellom instrumenter for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på tre BenchMark XT-instrumenter var 100 % samsvarende i alle seks tilfeller.

For testing av intermediær presisjon mellom BenchMark ULTRA-instrumenter ble 4 objektglass fra seks tilfeller farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på tre forskjellige BenchMark ULTRA-instrumenter. Ett enkelt objektglass fra hvert tilfelle ble farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistoff. Intermediær presisjon mellom instrumenter for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på tre BenchMark ULTRA-instrumenter var 100 % samsvarende i alle seks tilfeller.

All reproduktbarhetstesting oppfyller akseptkriteriene som kreves for å bestå.

Presisjon for BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet

Ni individuelle vev ble farget som en del av presisjonstestingen. Av de ni vevene var det tre som hadde høyt PR-uttrykk, tre som hadde lavt PR-uttrykk, og tre som var PR-negative, basert på en terskelverdi på < 1 % farging av tumorceller for negative, 1–10 % for lavt uttrykk og > 10 % for høyt uttrykk.

For testing av repeterbarhet innenfor kjøring ble fem objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff og ett objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistoff på et BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Repeterbarhet innenfor kjøring for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet var 100 % samsvarende. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-fargede objektglass var akseptable med hensyn til signal og bakgrunn.

For testing av intermediær presisjon (dag til dag-presisjon) ble to objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff og ett objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistoff i fem separate ikke-etterfølgende kjøring utført over en periode på 20 dager på samme BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Mellomdags intermediær presisjon for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet var 97.8 % samsvarende. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-fargede objektglass var akseptable med hensyn til signal og bakgrunn.

For testing av intermediær presisjon mellom BenchMark ULTRA PLUS-instrumenter ble to objektglass fra hvert tilfelle farget med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på tre forskjellige BenchMark ULTRA PLUS-instrumenter. Ett enkelt objektglass fra hvert tilfelle

ble farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistoff. Intermediær presisjon mellom instrumenter for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på tre BenchMark ULTRA PLUS-instrumenter var 98.1 % samsvarende.

Reproduserbarhet mellom laboratorier

En studie av reproduserbarhet mellom laboratorier for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff ble utført ved bruk av 14 objektglass med brystkreftvev (8 positive, 2 lavt positive, 4 negative) kjørt på 3 BenchMark XT- og 3 BenchMark ULTRA-instrumenter ved bruk av *VIEW* DAB-deteksjonskit og *ultraView* Universal DAB Detection Kit på 5 ikke-etterfølgende dager i en periode på minst 20 dager på 3 eksterne laboratorier. Prøvene ble randomisert og evaluert av i alt 6 patologer (2 patologer per sted) med hensyn til prosentandel fargede tumorceller. Et tilfelle ble ansett som PR-positivt hvis det var farging av kjernen i minst 1 % av invasive tumorceller.⁹

For presisjon fra sted til sted var gjennomsnittlig positivt samsvar (APA) og gjennomsnittlig negativt samsvar (ANA) for klinisk evaluering av CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff henholdsvis 99.7 % og 99.1 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *VIEW*-deteksjonskit, henholdsvis 98.6 % og 95.4 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit, henholdsvis 99.4 % og 98.4 % på BenchMark XT-instrumentet med *VIEW*-deteksjonskit, og henholdsvis 97.4 % og 91.3 % på BenchMark XT-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

For presisjon mellom dager var APA- og ANA-prosentene for klinisk evaluering av CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff henholdsvis 99.7 % og 99.1 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *VIEW*-deteksjonskit, henholdsvis 98.5 % og 95.5 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit, henholdsvis 99.3 % og 98.3 % på BenchMark XT-instrumentet med *VIEW*-deteksjonskit, og henholdsvis 97.0 % og 90.8 % på BenchMark XT-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

For presisjon fra leser til leser var APA og ANA for klinisk evaluering av CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff henholdsvis 99.7 % og 99.1 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *VIEW*-deteksjonskit, henholdsvis 98.6 % og 95.6 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit, henholdsvis 99.3 % og 98.3 % på BenchMark XT-instrumentet med *VIEW*-deteksjonskit, og henholdsvis 98.6 % og 95.1 % på BenchMark XT-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

For presisjon mellom plattformene over BenchMark ULTRA- og BenchMark XT-instrumentene var APA- og ANA-prosentene henholdsvis 99.5 % og 98.7 % for *VIEW*-deteksjonskit, og henholdsvis 98.0 % og 93.9 % for *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

For presisjon innenfor plattformen var APA og ANA henholdsvis 98.7 % og 96.4 % for BenchMark ULTRA-instrumentet, og henholdsvis 97.4 % og 92.6 % for BenchMark XT-instrumentet.

Sammenligning av *VIEW* DAB-deteksjonskit og *ultraView* Universal DAB Detection Kit ved bruk av CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff ble brukt til å utføre sammenligningstesting av deteksjon på tvers av to instrumenter (BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter) ved hjelp av *VIEW* DAB Detection Kit og *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Etthundre og nittini vevskasus ble brukt som en del av testingen. Av disse var ca. halvparten positive og halvparten negative som en funksjon av prosentandelen av tumorcellene som ble farget. De fargede objektglassene ble evaluert av patologer som bestemte prosentandelen av fargede tumorceller. Et tilfelle ble ansett som PR-positivt hvis det var farging av kjernen i minst 1 % av tumorceller.

Morfologi og bakgrunnsakseptabilitet var 100 % for både deteksjonskit og instrumenter, bortsett fra for *ultraView* Universal DAB Detection Kit på BenchMark ULTRA-instrumentet, som hadde en bakgrunnsakseptabilitet på 99.5 %. Direkte sammenligninger for positiv og negativ klinisk evaluering mellom deteksjonskit for hver plattform presenteres i REF_Ref38496515 i h tabell 6 for BenchMark ULTRA-instrumentet og Tabell 7 for BenchMark XT-instrumentet.

Tabell 6. Klinisk evaluering av *ultraView* Universal DAB Detection Kit vs. *VIEW* DAB-deteksjonskit på BenchMark ULTRA-instrumentet.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW</i> DAB Detection Kit		
	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv	94	11	105
Negativ	2	86	88
Totalt	96	97	193

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW</i> DAB Detection Kit		
	Positiv	Negativ	Totalt
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv samsvar i prosent	94/96	97.9 (92.7–99.4)	
Negativt samsvar i prosent	86/97	88.7 (80.8–93.5)	
Totalt samsvar i prosent	180/193	93.3 (88.8–96.0)	

Tabell 7. Klinisk evaluering av *ultraView* Universal DAB Detection Kit vs. *VIEW* DAB-deteksjonskit på BenchMark XT-instrumentet.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW</i> DAB Detection Kit		
	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv	91	14	105
Negativ	2	86	88
Totalt	93	100	193
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv samsvar i prosent	91/93	97.8 (92.5–99.4)	
Negativt samsvar i prosent	86/100	86.0 (77.9–91.5)	
Totalt samsvar i prosent	177/193	91.7 (87.0–94.8)	

Samsvar i den kliniske evalueringen mellom deteksjonskit for begge instrumenter var over 90 % ved henholdsvis 93.3 % (n = 193) og 91.7 % (n = 193) for BenchMark ULTRA- og BenchMark XT-instrumentene. *ultraView* Universal DAB Detection Kit sammenlignet med *VIEW* DAB Detection Kit hadde samsvarsrater for fargingsscore på 90.2 % (n = 193) og 85.5 % (n = 193).

Sammenligning av BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet og BenchMark ULTRA-instrumentet

En studie ble utført for å sammenligne fargingsytelsen for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet sammenlignet med BenchMark ULTRA-instrumentet. Ett hundre og trettifire (134) tilfeller av brystkreftvev (61 PR-positive, 61 PR-negative og 12 PR-grensespesifikt positive), som representerte det kliniske spekteret for analysen. De fargede objektglassene ble evaluert av patologer som bestemte prosentandelen av fargede tumorceller. Et tilfelle ble ansett som PR-positivt hvis det var farging av kjernen i minst ≥ 1 % av invasive tumorceller.⁹ Den direkte sammenligningen etter positiv og negativ PR-status mellom BenchMark ULTRA-instrumentet og BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet vises i Tabell 8.

Tabell 8. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet og CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA-instrumentet (unntatt grensetilfeller av positive resultater).

BenchMark ULTRA PLUS-instrument	BenchMark ULTRA-instrument		
	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv	79	2	81
Negativ	6	23	29
Totalt	85	25	110
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv samsvar i prosent	79/85	92.9 (85.4–96.7)	
Negativt samsvar i prosent	23/25	92.0 (75.0–97.8)	
Totalt samsvar i prosent	102/110	92.7 (86.3–96.3)	

Morfologiakseptabiliteten for alle objektglassene som ble farget i denne studien, var 100.0 % (95 % C.I. 97.2 %–100.0 %) for BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet. Bakgrunnsakseptabiliteten var 100.0 % (95 % C.I. 97.2 %–100.0 %) for BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet.

KLINISK YTELSE

Sammenligning av CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff og FLEX anti-PR (PgR 636).

En randomisert multisenterstudie med flere lesere ble utført for å sammenligne fargingsytelsen for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA-instrumentet og på BenchMark XT-instrumentet med fargingsytelsen for Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR (PgR 636)) på Dako Autostainer Plus. På BenchMark IHC/ISH-instrumentene ble endogent biotin blokkert ved hjelp av VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit. Antistoffet ble påvist ved bruk av VIEW DAB Detection Kit. På Dako-plattformen ble antistoffet påvist ved bruk av EnVision Flex, High pH-påvisning. Ca. 120 negative og 216 positive tilfeller av brystkreft, som representerer analysens kliniske område, ble tilfeldig tildelt tre studiesentre, slik at hvert senter fikk et likt antall tilfeller og tilfeller som representerte hver kliniske evalueringskategori. Hvert sted farget sine tildelte kasus med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet på et BenchMark ULTRA-instrument, CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på et BenchMark XT-instrument, og med FLEX anti-PR (PgR 636) på en Dako Autostainer Plus. De fargede objektglassene ble evaluert av patologer som bestemte prosentandelen av fargede tumorceller. Et tilfelle ble ansett som PR-positivt hvis det var farging av kjernen i minst $\geq 1\%$ av invasive tumorceller.⁹

Tabell 9. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA-instrumentet sammenlignet med FLEX anti-PR (PgR 636) på Dako Autostainer Plus.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv:	200	7	207
Negativ:	9	104	113
Sum:	209	111	320
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv samsvar i prosent	200/209	95.7 (92.0–97.7)	
Negativt samsvar i prosent	104/111	93.7 (87.6–96.9)	
Totalt samsvar i prosent	304/320	95.0 (92.0–96.9)	

Tabell 10. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark XT-instrumentet sammenlignet med FLEX anti-PR (PgR 636) på Dako Autostainer Plus.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv:	186	9	195
Negativ:	18	100	118
Sum:	204	109	313
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv samsvar i prosent	186/204	91.2 (86.5–94.3)	
Negativt samsvar i prosent	100/109	91.7 (85.0–95.6)	
Totalt samsvar i prosent	286/313	91.4 (87.7–94.0)	

For CONFIRM anti-PR (1E2)-antistofffarging på BenchMark ULTRA- og BenchMark XT-instrumenter sammenlignet med FLEX anti-PR (PgR 636) på Dako Autostainer Plus var positivt, negativt og totalt samsvar (samlet for alle sentre) over 90 %.

Tabell 11. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark ULTRA-instrumentet sammenlignet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoff på BenchMark XT-instrumentet.

BenchMark ULTRA-instrument	BenchMark XT-instrument		
	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv:	184	12	196
Negativ:	6	105	111
Sum:	190	117	307

BenchMark ULTRA-instrument	BenchMark XT-instrument		
	Positiv	Negativ	Totalt
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv samsvar i prosent	184/190	96.8 (93.3–98.5)	
Negativt samsvar i prosent	105/117	89.7 (82.9–94.0)	
Totalt samsvar i prosent	289/307	94.4 (90.9–96.3)	

For CONFIRM anti-PR (1E2)-antistofffarging på BenchMark ULTRA-instrumentet sammenlignet med BenchMark XT-instrumentet var positivt, negativt og totalt samsvar over 89 %.

Morfologiakseptabiliteten for alle objektglassene som ble farget i denne studien, var 99.7 % (95 % C.I. 98.3 %–99.9 %) på BenchMark ULTRA-instrumentet og 96.1 % (95 % C.I. 93.5 %–97.7 %) på BenchMark XT-instrumentet. Bakgrunnsakseptabiliteten var 99.4 % (95 % C.I. 97.9 %–99.8 %) på BenchMark ULTRA-instrumentet og 95.2 % (95 % C.I. 92.4 %–97.0 %) på BenchMark XT-instrumentet.

FEILSØKING

- Hvis den positive kontrollen viser svakere farging enn forventet, skal andre positive kontroller kjørt samtidig sjekkes for å finne ut om det skyldes det primære antistoffet eller et av de felles sekundære reagensene.
- Hvis den positive kontrollen er negativ, skal den sjekkes for å sikre at objektglasset har riktig strekkodeetikett. Hvis objektglasset er riktig merket, skal andre positive kontroller kjørt samtidig sjekkes for å finne ut om det skyldes det primære antistoffet eller et av de felles sekundære reagensene. Vevsprøver kan være tatt, fiksert eller avparafinert på feil måte. Riktig prosedyre må følges ved innsamling, oppbevaring og fiksering.
- Hvis det oppstår for mye bakgrunnsfarging, kan det være store mengder med endogent biotin. Et biotinblokkerende trinn bør tas med.
- Hvis ikke all parafin er fjernet, gjentas prosedyren for avparafinering.
- Hvis den spesifikke antistofffargingen er for intens, skal kjøringen gjentas med forkortelse av inkubasjonstiden for det primære antistoffet med intervaller på 4 minutter, til ønsket fargingsintensitet oppnås.
- Hvis vevsnettene vaskes av objektglasset, skal objektglassene sjekkes for å sikre at de er positivt ladet.
- Du finner korrigerende tiltak i avsnittet Trinnvis prosedyre i instrumentets brukermanual eller ved å kontakte lokal brukerstøtte.

REFERANSER

- 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.
- Grimm SL, Hartig SM, Edwards DP. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. J Mol Biol. 2016;428(19):3831-3849.
- Tanos T, Rojo L, Echeverria P, et al. ER and PR signaling nodes during mammary gland development. Breast Cancer Res. 2012;14(4):210.
- Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2017;26(4):444-457.
- Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2019.
- 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.
- Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. Rev Endocr Metab Disord. 2007;8(3):229-239.
- Horwitz KB, McGuire WL. Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. Science. 1975;189(4204):726-727.
- 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. Nadji 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, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
21. Omata M, Liew CT, Ashcava 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.

MERK: Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Det brukes ikke skilletegn for tusener.

Sammendrag av sikkerhet og ytelse finner du her:

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

Symboler

Ventana bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er oppført i ISO 15223-1-standard (for USA: se elabdoc.roche.com/symbols for mer informasjon).

GTIN

Globalt artikkelnummer

Rx only

For USA: Forsiktig: Føderal lov begrenser denne enheten til å selges av eller på bestilling fra en lege.

REVISJONSHISTORIKK

Rev	Oppdateringer
H	Korrigert referanse til tabell 8. Oppdatert til gjeldende mal.

OPPHAVSRETT

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM og ULTRAVIEW er varemerker for Roche. Alle andre produktnavn og varemerker tilhører sine respektive eiere.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTINFORMASJON



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

