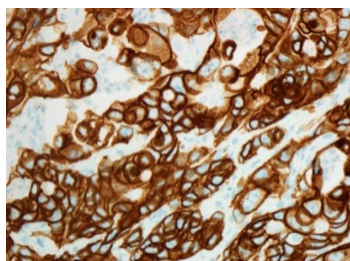


VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4493

05999570001

IVD  50



Figur 1. VENTANA anti-HER2/neu (4B5) 3+-farging i magekasinom.

TILSIKTET BRUK

VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (VENTANA HER2 (4B5)) er beregnet på semikvantitativ påvisning av HER2-antigen i formalinfikserte, parafininnstøpte normale og neoplastiske bryst- og magevevssnitt på en VENTANA automatisert IHC/ISH-fargemaskin til objektglass.

Det indiseres som et hjelpemiddel i evalueringen av pasienter med bryst- og magekreft, som behandling med

Herceptin vurderes for og for brystkreftpasienter som man vurderer behandling for med Kadcylla (trastuzumab emtansine) eller Perjeta (pertuzumab).

Dette produktet skal tolkes av en kvalifisert patolog sammen med histologisk undersøkelse som er relevant for klinisk informasjon og egnede kontroller.

Dette antistoffet er beregnet for bruk i forbindelse med *in vitro*-diagnostikk.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

VENTANA HER2 (4B5) er et monoklonalt antistoff fra kanin (Clone 4B5) rettet mot det interne domenet til c-erbB-2-onkoproteinet (HER2). C-erbB-2-onkoproteinet ble klonet og karakterisert av Akiyama et al i 1986.¹ Det er et ca. 185 kD transmembrant glykoprotein som er strukturelt likt epidermal vekstfaktorreseptor (EGFR). Proteinet er forbundet med tyrosinkinaseaktivitet som ligner på den til en rekke vekstfaktorreseptorer og på den til de transformerende proteinene i *src*-familien. Kodesekvensen er konsekvent med et ekstracellulært bindingsdomene og et intracellulært kinasedomene. Dette antyder at HER2 kan være involvert i signaltransduksjon og stimulering av mitogen aktivitet.¹

Clone 4B5 er påvist å reagere med 185 kD-proteinet fra SK-BR-3-cellelysater via Western blotting. SK-BR-3 er en brystkarsinom-cellelinje som har en 128 ganger overuttrykking av HER2 mRNA.² Størrelsen på det identifiserte båndet samsvarer godt med det som er rapportert for HER2-protein (185 kD).¹ Immunhistokjemiske eksperimenter med transfekterte cellelinjer (HEK293) har vist at Clone 4B5 farger celler transfektert med HER2 og celler transfektert med HER4. Det ble ikke observert farging av celler transfektert med HER1 eller HER3. Western blot-data med rekombinant HER4-protein indikerte også at Clone 4B5 gjenkjenner et HER4-epitop.

I brystkarsinom uttrykkes HER2-proteinet på et nivå som kan påvises med immunhistokjemi i opptil 20 % av adenokarsinomer fra forskjellige steder. Mellom 15 – 30 % av invasive typer ductalkreft er positive for HER2.³ Nesten alle tilfeller av Pagets sykdom i brystet⁴ og opptil 90 % av tilfeller av ductalt karsinom *in situ* av typen comedo er positive.³ I magekarsinom uttrykkes HER2-proteinet på et nivå som kan påvises med immunhistokjemi i opptil 30 % av intestinal type, 15 % blandet type og 5 % diffus type magekreft. Den immunhistokjemiske påvisningen av HER2-proteinoveruttrykking brukes også som et hjelpemiddel for å fastslå hvilke pasienter behandling med HER2 er beregnet for.^{5,31-35}

Resultater fra farging i normalt vev, neoplastisk vev og 322 tilfeller av brystkarsinom med Clone 4B5 ble vurdert av Ventana. I de normale testede vevene var uttrykking konsekvent med publisert litteratur i at det ikke fantes noen uventet spesifikk cytoplasmisk/membranfarging, med følgende unntak: to tilfeller av tonsill som utviste farging av epitelcellemembran, ett tilfelle av skjoldbruskkjertel og ett tilfelle av øsofagealt epitel. Av de testede neoplastiske vevene ble cytoplasmisk/membranfarging observert i kreftceller i bryst, kolon og eggstokk. Tre hundre og tjueto (322) brystkarsinomer ble vurdert med Clone 4B5 i en metodesammenligningsstudie med PATHWAY HER-2/neu (CB11). Det finnes betydelig samsvar av farging mellom disse to testene. Se avsnittet Sammendrag av forventede resultater for mer informasjon. Du finner mer informasjon om Clone 4B5 i referansene.²⁴⁻³⁰

Bruken av forhåndsfortynnet VENTANA HER2 (4B5) og bruksklar /VIEW DAB Detection Kit og *ultraView* Universal DAB Detection Kit, i kombinasjon med en VENTANA automatisert IHC/ISH-fargemaskin for objektglass, reduserer faren for menneskelige feil og naturlig variasjon som følge av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og manuell påføring av reagens.

KLINISK SIGNIFIKANS

Brystkreft er det vanligste karsinomet hos kvinner og den nest største årsaken til kreftrelatert død. I Nord-Amerika har kvinner en 1/8 risiko for å rammes av brystkreft.⁶ Tidlig påvisning og egnet behandling kan påvirke den totale overlevelsen betraktelig.⁷ Magekreft er den fjerde mest utbredte krefttypen og den nest største årsaken til kreftrelatert død på verdensbasis. Kirurgi er den mest utbredte behandlingen mot magekreft. De fleste typer magekreft påvises imidlertid på et avansert stadium, og kirurgi er ofte vanskelig å gjennomføre. Kjemoterapi brukes til behandling av avansert magekreft selv om overlevelsen for kreftpasientene er svært lav. Små vevsprøver kan lett brukes i rutinemessig immunhistokjemi (IHC) slik at denne teknikken, kombinert med antistoffer som detekterer antigener som er viktige for tolkning av karsinom, blir et effektivt verktøy for patologen i diagnosen og prognosen av sykdom. En viktig markør ved bryst- og magekreft i dag er c-erbB-2-onkoprotein (HER2).

HER2 er et transmembranprotein.⁸ Det er nært beslektet med EGFR og har, i likhet med EGFR, tyrosinkinaseaktivitet.¹ Genamplifikasjon og tilsvarende overuttrykking av c-erbB-2 er påvist i en rekke tumorer, deriblant brystkarsinomer.^{8,9}

HER2-terapi er påvist å hjelpe enkelte pasienter med bryst- og magekarsinom. Kun pasienter med HER2-positive bryst- og magekarsinomer skal derfor få utbytte av behandling med HER2 *in vitro*-diagnostikk for å bestemme HER2-status for bryst- og magekarsinomer er viktig for å hjelpe legen med å bestemme behandling med HER2-terapi.

Tolking av resultatene fra ethvert deteksjonssystem for HER2 må ta i betraktning at HER2 uttrykkes i både bryst- og magekrefttumorer og friskt vev, men på ulike nivåer og med ulike uttrykkingsmønstre.¹⁰ Histologiske vevsprepareringer har fordelen med intakt vevsmorfologi for å bidra til tolkningen av HER2-positivitet i prøven.

PROSEDYREPRINSIPP

VENTANA HER2 (4B5) er et monoklonalt antistoff fra kanin som bindes til HER2 i parafininnstøpte vevssnitt. Det spesifikke antistoffet kan lokaliseres enten med et biotin-konjugert sekundært antistoff som gjenkjenner immunglobuliner av hare, etterfulgt av tilsetning av et konjugat av streptavidin pepperrotperoksidase (*VIEW* DAB Detection Kit) eller et sekundært antistoff-HRP-konjugat (*ultraView* Universal DAB Detection Kit). Det spesifikke antistoff-enzym-komplekset visualiseres deretter med et utfellende enzymreaksjonsprodukt. Hvert trinn inkuberes i en nøyaktig tid og temperatur. På slutten av hvert inkubasjonstrinn vasker VENTANA automatisert IHC/ISH-fargemaskin for objektglass snittene for å stanse reaksjonen og fjerne ubundet materiale som vil hindre ønsket reaksjon i påfølgende trinn. Den påfører også Liquid Coverslip, som reduserer fordamping og de vannholdige reagensene fra prøveobjektglasset.

Kliniske tilfeller skal vurderes i lys av ytelsen til egnede kontroller. Ventana anbefaler å inkludere en positiv evvskontroll som er fiksert og behandlet på samme måte som pasientprøven (for eksempel et svakt positivt bryst- eller magekarsinom). I tillegg til farging med VENTANA HER2 (4B5), bør et sekundært objektglass farges med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Hvis testen skal anses som gyldig, må det positive kontrollvevet utvise membranfarging av tumorcellene. Disse komponentene bør være negative ved farging med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. I tillegg anbefales det at et negativt objektglass (for eksempel et HER2-negativt bryst- eller magekarsinom) inkluderes for hvert prøveparti som behandles og kjøres på VENTANA automatisert IHC/ISH-fargemaskin for objektglass. Denne negative evvskontrollen bør farges med VENTANA HER2 (4B5) for å sikre at antigenforsterkningen og andre forbehandlingsprosedyrer ikke ga falskt positiv farging.

MEDFØLGENDE REAGENSER

VENTANA HER2 (4B5) -dispenser inneholder tilstrekkelig reagens til 50 tester.

En 5 ml-dispenser VENTANA HER2 (4B5) inneholder ca. 30 µg med et monoklonalt antistoff av hare rettet mot humant c-erbB-2-antigen.

Antistoffet er fortynnet i 0,05 M Tris-buffert saltløsning, 0,01 M EDTA, 0,05 % Brij-35 med 0,3 % bærerprotein og 0,05 % natriumazid som konserveringsmiddel. Det finnes spormengder av føtalt kalveserum, ca. 0,25 %, fra standardoppløsningen.

Total proteinkonsentrasjon for reagensen er omkring 16 mg/mL. Spesifikk antistoffkonsentrasjon er ca. 6 µg/mL. VENTANA HER2 (4B5) er en kanin-IgG fortynnet fra vevskultur-supernatanter.

Se pakningsvedlegget for det aktuelle VENTANA-deteksjonssett for detaljerte beskrivelser av: (1) Prosedyreprinsipper, (2) Nødvendige materialer og reagenser som ikke følger med, (3) Prøvetakning og preparering for analyse, (4) Prosedyrer for kvalitetskontroll, (5) Feilsøking, (6) Tolking av resultater og (7) Generelle begrensninger.

NØDVENDIG MATERIALE SOM IKKE ER INKLUDERT

Fargereagenser, slik som VENTANA detection kits og tilbehør, herunder negative og positive kontrollobjektglass for vev, følger ikke med.

Ikke alle produkter som står oppført i pakningen er tilgjengelig i alle områder. Ta kontakt med din lokale støtterelevant.

OPPBEVARING

Oppbevares ved 2 til 8 °C. Skal ikke fryses.

For å sikre korrekt tilførsel av reagenser og stabilitet av antistoffet, skal lokket settes på igjen og dispenserens umiddelbart settes i kjøleskapet i stående posisjon etter hver kjøring.

Alle antistoffdispensere har holdbarhetsdato. Når den oppbevares på forsvarlig måte, vil reagensen være stabil fram til datoen som er angitt på etiketten. Reagensen skal ikke brukes etter utløpsdatoen.

PRØVEPREPARERING

Rutinemessig behandlet, formalinfiksert, parafininnstøpt vev er egnet til bruk med dette primære antistoffet ved bruk sammen med VENTANA deteksjonssett og VENTANA BenchMark, BenchMark GX, BenchMark XT og BenchMark ULTRA automatiserte fargemaskiner. Anbefalt vevfiksativ er 10 % nøytralt bufret formalin.²

Ca. 4 µm tykke snitt skal skjæres og plukkes opp på objektglass. Objektglassene skal være Superfrost Plus eller tilsvarende. Studier ved Ventana viser at lufttørkede vevsnitt og cellelinjesnitt som oppbevares ved 2 – 8 °C er stabile i minst 6 måneder. Hvert laboratorium skal validere snittobjektglassenes stabilitet med sine egne prosedyrer og miljømessige oppbevaringsforhold.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Beregnet for bruk i forbindelse med *in vitro*-diagnostikk (IVD).
- Bruk av dette produktet for utvelgelse av pasienter som er kvalifisert for behandling med Kadcyla eller Perjeta, er ikke nødvendigvis tilgjengelig i alle markeder. Rådfør deg med din lokale Roche-representant for å bekrefte tilgjengelighet på spesifikke steder.
- 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.
- Materiale som stammer fra mennesker eller dyr, skal håndteres som smittefarlig materiale og deponeres i henhold til korrekt prosedyre.
- Unngå mikrobiologisk forurensning av reagenser da det kan gi gale resultater.
- Når dette produktet brukes i samsvar med instruksjonene, er det ikke klassifisert som en farlig substans. Konserveringsmidlet i reagensen er natriumazid. Symptomene på overeksponering av natriumazid inkluderer irritasjon i hud og øyne samt irritasjon i slimhinne og de øvre luftveiene. Konsentrasjonene av natriumazid i dette produktet er 0,05 % og oppfyller ikke OSHA-kriteriene for en farlig substans. Oppsamling av NaN₃ kan reagere med bly- og kobberør og danne svært eksplosive metallazider. Ved kassering må man skylle med rikelige mengder vann for å forhindre oppsamling av azider i rørene.¹² Systemiske allergiske reaksjoner kan inntreffe hos følsomme personer.
- Ta kontakt med lokale eller nasjonale myndigheter for å få informasjon om anbefalt deponeringsmetode.
- Se produktets sikkerhetsdatablad for ytterligere informasjon.

FARGINGSPROSEDYRE

VENTANA primærantistoffer er utviklet til bruk på en VENTANA BenchMark, BenchMark GX, BenchMark XT og BenchMark ULTRA automatisert fargemaskin for objektglass med VENTANA deteksjonssett og tilbehør. Se Tabell 1 og Tabell 2 for anbefalte fargingsprotokoller.

Dette antistoffet er optimert for spesifikke inkubasjonstider, men brukeren må validere resultatene som oppnås med denne reagensen.

Parametrene for automatiserte prosedyrer kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til prosedyren i brukerhåndboken for instrumentet. Se pakningsvedlegget for det aktuelle VENTANA-deteksjonssettet for mer informasjon om immunhistokjemiske fargingsprosedyrer.

Tabell 1. Anbefalt fargingsprotokoll for VENTANA HER2 (4B5) med VIEW DAB Detection Kit på et BenchMark, BenchMark GX, BenchMark XT-instrument og BenchMark ULTRA-instrument.

Prosedyretype	Metode		
	BenchMark- og BenchMark GX-instrument	BenchMark XT-instrument	BenchMark ULTRA-instrument
Deparafinisering	Valgt	Valgt	Valgt
Cellekondisjonering (avmaskering av antigen)	Cell Conditioning 1, standard	Cell Conditioning 1, standard	ULTRA CC1, mild
Antistoff (primært)	32 minutter, 37 °C	32 minutter, 37 °C	24 minutter, 36 °C
A/B-blokk (Biotin-blokkering)	Ikke valgt	Valgt	Valgt
Kontrastfarging (hematoksilin)	Hematoxylin II, 4 minutter	Hematoxylin II, 4 minutter	Hematoxylin II, 4 minutter
Etter motfarging	Bluing, 4 minutter	Bluing, 4 minutter	Bluing, 4 minutter

Tabell 2. Anbefalt fargingsprotokoll for VENTANA HER2 (4B5) med *ultraView* DAB Detection Kit på et BenchMark, BenchMark GX, BenchMark XT-instrument og BenchMark ULTRA-instrument.

Prosedyretype	Metode	
	BenchMark-, BenchMark GX- og BenchMark XT-instrument	BenchMark ULTRA-instrument
Deparafinisering	Valgt	Valgt
Cellekondisjonering (avmaskering av antigen)	Cell Conditioning 1, mild	ULTRA CC1, mild
Antistoff (primært)	16 minutter, 37 °C	12 minutter, 36 °C
ultraWash	Valgt	Valgt
Kontrastfarge	Hematoxylin II, 4 minutter	Hematoxylin II, 4 minutter
Etter motfarging	Bluing, 4 minutter	Bluing, 4 minutter

PROSEDYRER FOR KVALITETSKONTROLL

Kontroller for cellelinjesystem

Ventana tilbyr, som et separat produkt, fire formalinfikserte cellelinjekontroller som er innstøpt i parafin, oppdelt og plassert på ett enkelt ladet objektglass. PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides (katalognr. 781-2991) kan være nyttige for en preliminær validering av behandlingsmetoden brukt for farging av objektglass med VENTANA HER2 (4B5). Disse fire cellelinjekontrollene karakteriseres av *in situ* hybridisering for genkopinummer. Når cellelinjene behandles og farges riktig, skal de farges som beskrevet i tabell 4. Hvis den angitte fargingen ikke vises i de relevante kjernene, spesielt kontrollene 1+ og 2+, bør fargingen av vevsprøvene gjentas.

Tabell 3. Egenskaper for PATHWAY HER-2 4 i 1 kontrollobjektglass.

HER2 IHC-score	Cellelinje	HER2/Chr17-forhold*
0	MDA-MB-231	1,11
1+	T47D	1,12
2+	MDA-MB-453	2,66
3+	BT-474	5,53

* HER2/Chr17-forhold er et gjennomsnitt av tre partier av PATHWAY HER-2 4 i 1 kontroll-objektglass bestemt ved bruk av fluorescerende *in situ*-hybridisering (FISH).

Positiv vevskontroll

En positiv kontrollvevsprøve fiksert og behandlet på samme måte som pasientprøvene må kjøres for hvert sett testbetingelser og med hver utførte VENTANA HER2 (4B5)-fargingsprosedyre. Dette vevet kan inneholde både positivt fargede celle-/vevskomponenter og negative celle-/vevskomponenter og kan tjene som både positivt og negativt kontrollprøvevev. Kontrollvev bør være prøver fra nylig utført obduksjon, biopsi eller kirurgi, preparert og fiksert så snart som mulig på identisk måte som prøvesnittene. Slikt vev kan overvåke alle trinn i analysen fra vevspreparering frem til farging. Bruk av vevssnitt som er fiksert eller prosessert på en annen måte enn testprøven, vil gi kontroll for alle reagenser og metodetrinn bortsett fra fiksering og vevspreparering. En vevsprøve med svak positiv farging er bedre egnet enn sterk positiv farging for optimal kvalitetskontroll og for å påvise lave nivåer av reagensforringelse. Helst bør man velge et vev som er kjent for å ha svak men positiv farging for å sikre at systemet er følsomt overfor små mengder reagensforringelse eller problemer med IHC-metodologien. Neoplastisk vev som er positivt for HER2 er imidlertid som regel sterkt positivt på grunn av patologiens natur (overuttrykking). Et eksempel på en positiv kontroll for HER2 (4B5) er et kjent svakt HER2-positivt invasivt brystkarsinom, eller en svak positiv magekarsinomprøve. De positivt fargende vevskomponentene (membran farging av neoplastiske celler) brukes for å bekrefte at antistoffet ble benyttet og at instrumentet fungerte riktig.

Vevskontroller som er kjent positive bør bare brukes ved overvåking av korrekt resultat for behandlede vev og testreagenser, og ikke som hjelp til å bestemme spesifikk diagnose i pasientprøver.

Negativ vevskontroll

Objektglasset som brukes til den positive vevskontrollen (duktalt eller lobulært invasivt brystkarsinom, eller magekarsinom), kan også brukes som en negativ vevskontroll. De ikke-fargende komponentene (omgivende stroma, lymfoide celler og blodkar) skal utvise fravær av spesifikk farging og gi en indikasjon på spesifikk bakgrunnsfarging (falsk positiv) med det primære antistoffet. Bruk et kjent negativt vev, fiksert, behandlet og innstøpt på en måte som er identisk med pasientprøven(e).

Negativ reagenskontroll

En negativ reagenskontroll må kjøres for hver prøve for å bidra til tolkning av resultatene. En negativ reagenskontroll må brukes i stedet for det primære antistoffet for å evaluere ikke-spesifikk farging. Objektglasset skal farges med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Inkubasjonsperioden for den negative reagenskontrollen skal tilsvare inkubasjonsperioden for det primære antistoffet.

Uforklarlige avvik

Uforklarlige avvik i kontroller skal henvises til din lokale representant umiddelbart. Hvis resultater fra kvalitetskontrollene ikke oppfyller spesifikasjonene, vil pasientresultatene være ugyldige. Se avsnittet Feilsøking i dette pakningsvedlegget. Identifiser og korriger problemet, og gjenta deretter pasientprøvene.

Analysebekreftelse

Før første gangs bruk av et primærantistoff eller fargingssystem i en diagnostisk prosedyre, bør spesifisiteten til det primære antistoffet bekreftes ved å teste det på en rekke vevsprøver med kjente immunhistokjemiske egenskaper som kan representere kjente positive og negative vev (se avsnittet Kvalitetskontrollprosedyrer som ble beskrevet tidligere i dette avsnittet i produktvedlegget og kvalitetskontrollanbefalingene fra College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist¹³ eller CLSI Approved Guideline¹⁴ eller begge disse dokumentene). Disse kvalitetskontrollprosedyrene bør gjentas for hver ny produksjonsserie av et antistoff eller hver gang det gjøres en endring i analyseparametrene. Bryst- og magekreftvev med kjent HER2-status er egnet for analysebekreftelse.

TOLKNING AV RESULTATER

Den VENTANA automatiserte immunfargingsprosedyren forårsaker utfelling av et brunt (DAB) reaksjonsprodukt på antigenstedende lokalisert av VENTANA HER2 (4B5).

En kvalifisert patolog med erfaring fra immunhistokjemiske rutiner må evaluere kontroller og kontrollere fargingsproduktet før resultatene tolkes.

Positiv kontroller

Den fargede positive vevskontrollen bør først undersøkes for å bekrefte at alle reagenser fungerer riktig. Hvis det finnes et reaksjonsprodukt med riktig farge i membranen til målcellene, vil dette være tegn på positiv reaktivitet. Avhengig av inkubasjonstiden og styrken til det benyttede hematoksylinet, vil kontrastfarging gi en blek til mørkeblå farging av cellekjernen. Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan forvanske riktig tolkning av resultater.

Hvis den positive vevskontrollen ikke gir positiv farging, bør alle resultater med testprøvene betraktes som ugyldige.

Negative vevskontroller

Den negative vevskontrollen skal undersøkes etter den positive vevskontrollen for å verifisere den spesifikke merkingen av målantigenet med det primære antistoffet. Fravær av spesifikk farging i den negative vevskontrollen bekrefter manglende kryssreaktivitet for antistoff til celler eller cellekomponenter. Hvis det forekommer spesifikk farging i den negative vevskontrollen, skal resultater med pasientprøven betraktes som ugyldige.

Negativ regenskottroller

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 bør brukes til tolkning av fargingsresultater, siden nekrotiske eller degenererte celler ofte gir ikke-spesifikk farging.

Pasientvev

Pasientprøver bør undersøkes sist. Positiv fargingsintensitet bør vurderes i lys av eventuell bakgrunnsfarging i den negative reagenskontrollen. På samme måte som for alle andre immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at det aktuelle antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet ikke er til stede i cellene eller det analyserte vevet. Morfologien til enhver vevsprøve skal også undersøkes med et snitt farget med hematoksylin og eosin når et immunhistokjemisk resultat skal tolkes. Pasientens morfologiske funn og relevante, kliniske data må tolkes av en kvalifisert patolog.

FARGINGSTOLKNING

Scoringskonvensjoner for tolkning av VENTANA HER2 (4B5) i brystkarsinom

Brystkarsinomer som anses som positive for overuttrykking av HER2-protein må oppfylle terskelkriteriene for fargingsintensitet (2+ eller mer på en skala på 0 til 3+) og prosentandel positive tumorceller (mer enn 10 %). Farging må også lokalisere til cellemembranen. Cytoplasmisk farging kan fremdeles være til stede, men denne fargingen inngår ikke i bestemmelsen av positivitet. Skann hele vevssnittet for å sørge for at kun godt konserverte og godt fargede områder scores. Farging som omringer den cytoplasmiske membranen fullstendig skal scores som en intensitet på "2+" eller "3+". Delvis farging av membranen skal scores som "1+". Det kan bli nødvendig å undersøke grensetilfeller med en 40X forstørrelse eller mer for å diskriminere mellom intensitetene "1+" og "2+". I motsetning til tilfeller som scores med intensiteten 3+ har farging scoret som 2+ en renere og mer tydelig tegnet ring, mens tilfeller scoret som 3+ har et svært tykt omriss. Nedenfor er et hurtigreferansediagram for fargingskriterier. Se *Interpretation Guide for VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody staining of breast and gastric carcinoma* for en mer detaljert beskrivelse med fotografier av farging med VENTANA HER2 (4B5).

Tabell 4. Kriterier for intensitet og mønster for cellemembranfarging med VENTANA HER2 (4B5) i brystkarsinom.

Fargingsmønster	Score (rapporter til behandlende lege)	Evaluerings av HER2-farging
Ingen membranfarging er observert	0	Negativ
Svak, delvis farging av membranen i en hvilken som helst del av kreftcellene	1+	Negativ
Svak, fullstendig farging av membranen, mer enn 10 % for kreftceller	2+	Tvetydig*
Intens, fullstendig farging av membranen, mer enn 10 % for kreftceller	3+	Positiv

*Anbefal refleks til ISH

Scoringskonvensjoner for tolkning av VENTANA HER2 (4B5) i magekarsinom

Magekarsinomer som anses som positive for overuttrykk av HER2-protein, må oppfylle et terskelkriterium mht. intensitet og mønster av membranfarging (2+ eller mer på en skala på 0 til 3+) og prosentandel positive tumorceller. Farging må lokaliseres til cellemembranen, men trenger ikke å ha en fullstendig omkrets, siden basolateral farging observeres jevnlig og skal vurderes for scoring. Farging av cytoplasma og/eller kjernen kan være tilstede, men denne farging inngår ikke i bestemmelsen av positivitet. I magekarsinom avhenger prosentandelen av positive tumorceller av om hvorvidt prøven er en biopsiprøve (≥5 sammenhengende celler) eller en reseksjonsprøve (≥10 %).

Når du fastslår scoringsretningslinjene for HER2-immunhistokjemi i magekreft¹⁵ må du være klar over at selv om sterk membran farging er et bevis på overuttrykk av HER2-protein i neoplastiske celler, trenger den ikke å ha fullstendig omkrets.

Rüschhoff et al rapporterte diffus cytoplasmisk farging med eller uten nukleær farging ved magekreft.¹⁶ Kun membran farging skal brukes til å bestemme uttrykk av HER2-protein ved magekreft.

Immunhistokjemisk farging med Clone 4B5 kan produsere cytoplasmisk og nukleær farging av normale mageslimhinner og sjeldnere av neoplastiske celler i magekarsinom og mage-/øsofaguskarinomer. Egenskapene til denne cytoplasmiske og nukleære farging er for øyeblikket ukjent. Dette fargemønsteret må ikke forveksles med den diskrete membran farging, siden dette er en indikasjon på HER2-positivitet i neoplastiske celler.

Se *Interpretation Guide for VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody staining of breast and gastric carcinoma* for en mer detaljert beskrivelse med fotomikrografer av farging med VENTANA HER2 (4B5).

Tabell 5. Kriterier for intensitet og mønster for cellemembranfarging med VENTANA HER2 (4B5) i magekarsinom.

Fargemønster – reseksjonsprøve	Fargemønster – biopsiprøve	Score (rapport til anvisende lege)	Evaluerings av HER2-farging
Ingen reaktivitet eller membran reaktivitet i <10 % av tumorceller	Ingen reaktivitet eller membran reaktivitet i en hvilken som helst tumorcelle	0	Negativ
Svak/nærmest umerkelig membran reaktivitet i ≥10 % av tumorceller. Celler er kun reaktive i deler av membranen	Gruppe av tumorceller* med svak / nærmest umerkelig membran reaktivitet uavhengig av prosentandelen fargede tumorceller	1+	Negativ
Svak til moderat fullstendig, basolateral eller lateral membran reaktivitet i ≥10 % av tumorceller	Gruppe av tumorceller med svak til moderat fullstendig, basolateral eller lateral membran reaktivitet uavhengig av prosentandelen fargede tumorceller.	2+	Tvetydig**
Sterk fullstendig, basolateral eller lateral membran reaktivitet i ≥10 % av tumorceller	Gruppe av tumorceller med sterk fullstendig, basolateral eller lateral membran reaktivitet uavhengig av prosentandelen fargede tumorceller.	3+	Positiv

*≥5 sammenhengende celler

** Anbefalt refleks til ISH

BEGRENSNINGER

Generelle begrensninger

- Immunhistokjemi er en diagnostisk prosess i flere trinn som krever spesialisert opplæring i valg av egnede reagenser og vev, fiksering, behandling, preparering av det immunhistokjemiske objektglasset, samt tolkning av fargingsresultatene.
- Vevsfarging er avhengig av håndteringen og behandlingen av vevet før det farges. Ukritisk fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminasjon med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, farging av antistoff eller falskt negative resultater. Inkonsekvante resultater kan oppstå som følge av variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetodene, eller på grunn av naturlige uregelmessigheter i vevet.
- Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan forvanske riktig tolkning av resultater.
- 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. Det er ansvaret til en kvalifisert patolog å ha grundig kunnskap om antistoffene, reagensene og metodene som brukes for å tolke det fargede preparatet. Farging skal utføres i et sertifisert, akkreditert laboratorium under oppsyn av en patolog som har ansvar for å gjennomgå de fargede objektglassene og sikre at de negative og positive kontrollene er adekvate.
- Ventana leverer antistoffer og reagenser ved optimal fortynning til bruk når de medfølgende anvisningene følges. Avvik fra anbefalte testprosedyrer kan ugyldiggjøre forventede resultater. Egnede kontroller må benyttes og dokumenteres. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer, må selv ta ansvaret for tolkning av pasientresultater.
- Dette produktet er ikke beregnet på bruk i flowcytometri, da ytelsesegenskaper ikke er fastslått.

- Reagensene vil kunne vise uventede reaksjoner i vev som tidligere ikke har vært testet. Muligheten for uventede reaksjoner i selv i testede vevsgrupper kan ikke elimineres helt på grunn av biologisk variabilitet av antigenuttrykk i neoplasmer, eller annet patologisk vev.¹⁷ Kontakt din lokale supportrepresentant med dokumenterte, uventede reaksjoner.
- Vev fra personer som er infisert med hepatitt B-virus og som har hepatitt B-overflateantigen (HBsAg), vil kunne utvise ikke-spesifikk farging med peroksidase fra pepperrot.¹⁸
- Falskt positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk proteinbinding eller substratreaksjonsprodukter. De kan være forårsaket av pseudoperoxidase-aktivitet (erytrocytter), endogen peroksidaseaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (eksempel: lever, hjerte, bryst, nyre) avhengig av typen anvendt immunologisk farging.¹⁹
- På samme måte som for alle andre immunhistokjemiske tester, betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, og ikke at antigenet ikke var til stede i cellene eller det analyserte vevet.

SPESIFIKKE BEGRENSNINGER

- Antistoffet er optimalisert som angitt i tabell 1 og 2 for VENTANA-plattformer og deteksjonsskjemier. På grunn av variasjoner innen vevsfiksering og -behandling, kan det være nødvendig å øke eller redusere inkubasjonstiden til primærantistoffet på enkelte prøver. For mer informasjon om fikseringsvariabler, se "Immunohistochemistry Principles and Advances".²⁰
- Antistoffet, i kombinasjon med VENTANA-deteksjonssett og -tilbehør, påviser antigen som overlever rutinemessig formalinfiksering, vevsbehandling og seksjonering. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer er ansvarlige for tolkning og godkjenning av pasientresultatene.
- Benmarg ble ikke testet for spesifisitet. Brukeren bør bestemme egnet farging i vevene ovenfor før fargingsinformasjonen tolkes.
- Immunhistokjemisk farging med Clone 4B5 kan produsere cytoplasmisk og nukleær farging av normale mageslimhinner og sjeldnere av neoplastiske celler i magekarsinom og mage-/øsofaguskarinomer. Egenskapene til denne cytoplasmiske og nukleære fargingen er for øyeblikket ukjent. Dette fargemønsteret må ikke forveksles med den diskrete membran fargingen, siden dette er en indikasjon på HER2-positivitet i neoplastiske celler.

YTELSESEGESKAPER

Ytelsen til VENTANA HER2 (4B5)-antistoffet ble vurdert ved hjelp av studier av spesifisitet, reproduserbarhet og metodesammenligning. All farging ble utført ved hjelp av iVIEW DAB Detection Kit-protokollen oppført ovenfor på en Benchmark XT automatisert fargemaskin, med mindre annet er angitt. Data presenteres først for brystkarsinom, deretter for magekarsinomer.

- Spesifisitet: Clone 4B5-spesifisitet ble fastslått av en studie som viste ikke-spesifikk membran farging for de fleste normale vev. Fargingsresultater var som følger: binyre (0/3), bryst (0/3), cerebellum (0/3), cerebrum (0/3), cervix (0/3), tykktarm (0/3), spiserør (1/3), hjerte (0/2), nyre (0/3), lever (0/3), lunge (0/3), mesotelceller (0/3), eggstokk (0/3), bukspyttkjertel (0/3), biskjoldbruskjertel (1/3, fokal membranfarging), perifer nerve (1/3), hypofyse (0/2), prostata (1/3), spyttkjertel (0/3), skjelettmuskel (0/3), hud (0/3), tynntarm (0/3), milt (0/3), mage (0/3), testikkel (0/3), thymus (0/2), skjoldbruskjertel (0/3), tonsill (2/3 fokal farging av overflateepitelceller) og livmor (0/3). Clone 4B5-spesifisitet ble også fastslått av en studie som viste ikke-spesifikk membran farging for de fleste neoplastiske vev. Fargingsresultater var som følger: brystkreft (1/4), karsinoid (0/2), tykktarmkreft (1/3), hepatocellulær kreft (0/5), leiomyom (0/2), lungekreft (0/2), lymfom (0/3), melanom (0/2), eggstokkreft (1/2), bukspyttkjertelkreft (0/3), prostatakrefte (0/3), nyrecellekreft (0/5), sarkom (0/2), magekreft (0/3), skjoldbruskjertelkreft (0/3) og udiffersiert kreft (0/1). Positiv farging i tonsillepitel, øsofagusepitel, prostata, perifer nerve, parathyroidea, brystkreft, tykktarm og eggstokkreft er konsekvent med publisert litteratur om uttrykk av HER2.
- Sensitivitet: Følsomhet demonstreres i tabell 9 og 11: Konsensus Clone 4B5 IHC-scoringer fra tre patologer sammenlignet med FISH.
- Reproduserbarhet av farging innen én kjøring på BenchMark og BenchMark XT-instrumentplattformene for farging ble fastslått ved å farge tre objektglass hver fra fem brystkreftvev med en score på 0, 1+, 2+ og 3+ HER2-uttrykk. For hvert tilfelle ble tre av 3 objektglass farget riktig innen en kjøring og for alle testede instrumentplattformer. Brukere bør bekrefte resultater fra reproduserbarhet innen

- kjøring ved å farge flere sett med etterfølgende snitt med lav, medium og høy antigen tetthet i én enkelt kjøring.
- Reproduserbarhet av farging mellom kjøringer og mellom plattformer ble fastslått ved å farge tre objektglass, hver med fem brystkreftvev med scoringer på 0, 1+, 2+ og 3+ HER2-uttrykk, på tre ulike instrumentkjøringer på tvers av BenchMark- og BenchMark XT-instrumentplattformene. For hvert tilfelle ble ni av 9 objektglass farget riktig over tre instrumentkjøringer og på tvers av alle testede instrumentplattformer.
- BenchMark XT-instrumentets farging mellom laboratorier og reproduserbarhet av scoring mellom lesere: Tre laboratorier deltok i studien av reproduserbarhet mellom laboratorier. Objektglass med snitt fra 40 nøytralt bufrede tilfeller med formalinfiksert invasivt brystkarsinom [10 hver fra hver HER2-sorteringskategori (0-1+, 2+, 3+)] og seks (6) PATHWAY HER-2 4 i 1 Control Slides ble sendt til hvert sted for farging på en VENTANA BenchMark XT automatisk fargemaskin-plattform ved bruk av den anbefalte fargingsprotokollen. Kontroller inkluderte PATHWAY HER-2 4 i 1 Control Slides og et andre objektglass med hvert tilfelle farget med negativ Ig-reagens. Ingen steder opplevde ugyldige kjøringer basert på kontrollenes ytelse. Resultatene ble analysert av Ventana. Trettifire av førti (34/40) objektglass viste lignende fargingsintensitet på tvers av fargingsstedene. Seks prøver (6/40 eller 15 %) varierte med maksimalt 1 intensitetsnivå. Tre (3/6) prøver varierte mellom 0 og 1+, som begge anses som negative. To prøver (2/40 eller 5 %) varierte mellom 2+ og 3+, og én prøve (1/40) varierte mellom 1+ og 2+.
- BenchMark XT-instrumentets reproduserbarhet av scoring mellom lesere: I alle 40 tilfeller (100 %), var minst 2 av 3 patologer enige.
- Reproduserbarhet mellom partier ble fastslått ved automatisert farging av 5 brystkreftvev med scoringer på 0, 1+, 2+ og 3+ HER2-uttrykk med 3 partier av HER2 (4B5). Fargede vev ble scoret på en skala fra 0 til 3+ av tre kvalifiserte lesere. Det fantes 100 % overensstemmelse mellom partier og lesere for de fargede 3 objektglassene og 5 vevsprøvene.
- Sammenligningsstudier av Clone 4B5 monoklonalt antistoff til PATHWAY HER-2/ neu (CB11) monoklonalt antistoff fra mus: Sammenheng av utførte studier. En metodesammenligningsstudie ble utført for å undersøke korrelasjonen av Clone 4B5 til PATHWAY HER-2/neu (CB11) og PathVision Her-2 FISH, begge tidligere godkjente FDA-diagnostiske tester. Seks forskere deltok i studien. To sett med tre ulike forskere evaluerte to uavhengige kohorter (Kohort 1: n=178, Kohort 2: n=144) ved hjelp av kjente tilfeller av brystkreft farget med PATHWAY HER-2/neu (CB11) og Clone 4B5. FISH-data ble samlet inn fra pasientanamnese. En konsensus-score fra de tre leserne for hvert antistoff ble opprettet for hvert tilfelle for å redusere variasjoner innen én leser, noe som eksisterer ved HER2-scoring.^{21,22,23} Totalt 322 tilfeller ble vurdert. Objektglassene farget med PATHWAY HER-2/neu (CB11) ble behandlet og farget i henhold til produsentens instruksjoner som er spesifisert i PATHWAY HER-2/neu (CB11) pakningsvedlegget. Det var i gjennomsnitt ca. ett år mellom farging og avlesing av de PATHWAY HER-2/neu (CB11)-fargede objektglassene. Siden score fra én av de seks leserne lå utenfor konfidensintervallet (CI), presenteres data fra de to kohortene som følger:

Reproduserbarhet mellom patologer av prøver fra sammenligningsstudier

Tabell 6. Kohort 1: Konsensus IHC-scoringer fra tre patologer.

Clone 4B5-score	PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skår			
	3+	2+	0, 1+	Total
3+	29	24	5	58
2+	2	13	17	32
0, 1+	0	0	53	53
Total	31	37	75	143

Kohort 1: Ytelseegenskaper for 3x3 presentasjon.

Total overensstemmelse er 29+13+53/143 = 66,4 % (95 % CI = 38,6 %, 59,7 %).

Kohort 1: Ytelseegenskaper for 2x2 presentasjon (HER-2-antistoffpositive (2+ og 3+) og -negative (0+ og 1+) score er kombinert).

- Positiv overensstemmelse i prosent er 29+2+24+13/31+37 = 100 % (95 % CI = 97,5 % – 100 %).
- Negativ overensstemmelse i prosent er 53/75 = 70,7 % (95 % CI = 58,5 % – 80,1 %).

Total overensstemmelse er $29+24+2+13+53/143 = 84,7\%$ (95 % CI = 78,2 % – 90,0 %).

Tabell 7. Kohort 2: Konsensus IHC-scoringer fra tre patologer.

Clone 4B5-score	PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skår			
	3+	2+	0, 1+	Total
3+	72	1	0	73
2+	1	12	5	18
0, 1+	0	7	80	87
Total	73	20	85	178

Kohort 2: Ytelsesegenskaper for 3x3 presentasjon.

Total overensstemmelse er $72+12+80/178 = 92,1\%$ (95 % CI = 80,1 % – 93,1 %).

Kohort 2: Ytelsesegenskaper for 2x2 presentasjon (positive (2+ og 3+) og negative (0+ og 1+) scoringer for HER2-antistoff er kombinert).

- Positiv overensstemmelse i prosent er $72+12+1+73+20 = 92,5\%$ (95 % CI = 85,2 % – 96,9 %).
- Negativ overensstemmelse i prosent er $80/85 = 94,1\%$ (95 % CI = 86,8 % – 98,1 %).

Total overensstemmelse er $72+12+1+80/178 = 93,3\%$ (95 % CI = 88,5 % – 96,4 %).

Tabell 8. Kohort 1: Konsensus PATHWAY HER-2/neu (CB11) IHC-skårer for tre patologer sammenlignet med FISH

PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skår	FISH-resultat		
	Positiv	Negativ	Total
3+	32	0	32
2+	32	5	37
0, 1+	22	53	75
Total	86	58	144

Kohort 1: Ytelsesegenskaper for PATHWAY HER-2/NEU (CB11) og FISH, 2x2-presentasjon (der score på 2 og 3 anses som positive).

- Positiv overensstemmelse i prosent er $32+32/86 = 74,4\%$ (95 % CI = 63,8 % – 83,2 %).
- Negativ overensstemmelse i prosent er $53/58 = 91,4\%$ (95 % CI = 80,9 % – 97,1 %).

Total overensstemmelse er $32+32+53/144 = 81,2\%$ (95 % CI = 73,9 % – 87,2 %).

Tabell 9. Kohort 1: Konsensus Clone 4B5 IHC-scoringer fra tre patologer sammenlignet med FISH.

Clone 4B5-score	FISH-resultat		
	Positiv	Negativ	Total
3+	55	3	58
2+	25	8	33
0, 1+	6	47	53
Total	86	58	144

Kohort 1: Ytelsesegenskaper for Clone 4B5 og FISH, 2x2 presentasjon (der scoringer på 2 og 3 anses som positive).

- Positiv overensstemmelse i prosent er $55+25/86 = 93,0\%$ (95 % CI = 87,9 % – 96,3 %).
- Negativ overensstemmelse i prosent er $47/58 = 81,0\%$ (95 % CI = 73,4 % – 86,0 %).

Total overensstemmelse er $55+25+47/144 = 88,2\%$ (95 % CI = 82,1 % – 92,2 %).

Tabell 10. Kohort 2: Konsensus PATHWAY HER-2/neu (CB11) IHC-skårer for tre patologer sammenlignet med FISH

PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skår	FISH-resultat		
	Positiv	Negativ	Total
3+	72	1	73
2+	13	7	20
0, 1+	8	77	85
Total	93	85	178

Kohort 2: Ytelsesegenskaper for PATHWAY HER-2/neu (CB11) og FISH, 2x2 presentasjon (der score på 2 og 3 anses som positive).

- Positiv overensstemmelse i prosent er $72+13/93 = 91,3\%$ (95 % CI = 85,0 % – 96,7 %).
- Negativ overensstemmelse i prosent er $77/85 = 90,6\%$ (95 % CI = 83,9 % – 96,3 %).

Total overensstemmelse er $72+13+77/178 = 91,0\%$ (95 % CI = 86,5 % – 94,9 %).

Tabell 11. Kohort 2: Konsensus Clone 4B5 IHC-scoringer fra tre patologer sammenlignet med FISH.

Clone 4B5-score	FISH-resultat		
	Positiv	Negativ	Total
3+	72	1	73
2+	11	7	18
0, 1+	10	77	87
Total	93	85	178

Kohort 2: Ytelsesegenskaper for Clone 4B5 og FISH, 2x2 presentasjon (der scoringer på 2 og 3 anses som positive).

- Positiv overensstemmelse i prosent er $72+11/93 = 89,2\%$ (95 % CI = 82,5 % – 95,1 %).
- Negativ overensstemmelse i prosent er $77/85 = 90,6\%$ (95 % CI = 84,0 % – 96,4 %).

Total overensstemmelse er $72+11+77/178 = 90,0\%$ (95 % CI = 85,4 % – 93,6 %).

Reproduserbarhet mellom patologer av prøver fra sammenligningsstudier

Siden det er godt kjent at ulike patologer kan ha ulike tolkninger av immunhistokjemiske objektglass, ble tre patologer benyttet for hver av de to kohortene (så totalt 6 patologer) for å lese alle prøvene. En to-av-tre-regel ble brukt til å bedømme de endelige resultatene. Nedenfor er et sammendrag av de forskjellige resultatene oppnådd av de tre patologene med sammenligningsstudieprøvene for hver kohort.

Tabell 12. Kohort 1: Clone 4B5-scoring for de tre patologene.

HER2-score	Clone 4B5-score		
	Forsker 1	Forsker 2	Forsker 3
3+	72	70	73
2+	22	19	18
0,1+	80	89	87
Total	174	178	178

Merk: Totalt 3 prøver varierte med mer enn ett graderingsnivå (dvs. 0, 2+) når evaluert av de tre patologene.

Prøve 1: Én patolog scoret 2+, to patologer scoret 0+.

Prøve 2: Én patolog scoret 0+, to patologer scoret 2+.

Prøve 3: Én patolog scoret 0+, den andre scoret 1+ og den tredje scoret 2+.

Tabell 13. Kohort 1: PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skåring for de tre patologene.

HER2-score	PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skår		
	Forsker 1	Forsker 2	Forsker 3
3+	72	75	73
2+	22	22	18
0,1+	80	81	87
Total	174	178	178

Merk: Totalt 1 prøve varierte med mer enn ett gradnivå (f.eks. 1, 3+) når de ble vurdert av de tre patologene.
Prøve 1: En patolog scoret 1+, den andre scoret 2+ og den tredje scoret 3+.

Tabell 14. Kohort 2: Clone 4B5-scoring for de tre patologene.

HER2-score	Clone 4B5-score		
	Forsker 4	Forsker 5	Forsker 6
3	59	65	50
2	30	28	39
0,1	52	51	55
Total	141	144	144

Merk: Totalt 6 prøver varierte med mer enn ett graderingsnivå (f.eks. 0, 3+) når evaluert av de tre patologene.
Prøve 1: En patolog scoret 0+, den andre scoret 0+ og den tredje scoret 2+.
Prøve 2: En patolog scoret 1+, den andre scoret 1+ og den tredje scoret 3+.
Prøve 3: En patolog scoret 0+, den andre scoret 2+ og den tredje patologen scoret 2+.
Prøve 4 og 5: En patolog scoret 0+, den andre scoret 2+ og den tredje scoret 2+.
Prøve 6: En patolog scoret 0+, den andre scoret 3+ og den tredje scoret 3+.

Tabell 15. Kohort 2: PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skåring for de tre patologene.

HER2-score	PATHWAY HER-2/neu (CB11)-skår		
	Forsker 4	Forsker 5	Forsker 6
3+	31	37	28
2+	38	32	47
0,1+	75	75	69
Total	144	144	144

Merk: Totalt 8 prøver varierte med mer enn ett graderingsnivå (dvs. 0 – 2+) når evaluert av de tre patologene.
Prøve 1–6: En patolog scoret 0+, den andre scoret 1+ og den tredje scoret 2+.
Prøve 7 og 8: En patolog scoret 0+, den andre scoret 2+ og den tredje scoret 2+.

Følgende er en tabell over områdene for prosentmessig overensstemmelse på tvers av patologparene (tre par for hver kohort).

Tabell 16. Områder på 2X2* overensstemmelse for de tre patologene.

	Helhetlig prosent samsvar	Positiv prosent samsvar	Negativ prosent samsvar
Clone 4B5 kontra PATHWAY HER-2/neu (CB11)			
Kohort 1	82,6 – 86,9 %	97,3 – 100,0 %	68,0 – 75,4 %
Kohort 2	88,2 – 95,5 %	87,6 – 95,6 %	86,1 – 95,4 %
Clone 4B5 vs. FISH			
Kohort 1	86,8 – 88,2 %	90,7 – 94,2 %	79,3 – 81,0 %
Kohort 2	87,4 – 89,9 %	88,2 – 90,0 %	84,5 – 91,8 %
PATHWAY HER-2/neu (CB11) kontra FISH			
Kohort 1	79,9 – 84,0 %	73,3 – 80,2 %	89,7 – 89,7 %
Kohort 2	84,8 – 93,3 %	86,7 – 92,5 %	82,7 – 94,1 %

* 0, 1+ = Negativ. 2+ og 3+ = Positiv.

Konklusjon: Data fra disse studiene indikerte at det primære Clone 4B5-antistoffet var spesifikt og reproducerbart mht. dets evne til å finne egnet membran farging for normalt og neoplastisk vev. Data fra metodesammenligning demonstrerte at det primære Clone 4B5-antistoffet er indisert som et hjelpemiddel ved vurdering av brystkreftpasienter der behandling med Herceptin overveies.

9. Ytelseegenskaper på BenchMark ULTRA-instrumentet ved bruk av iVIEW DAB Detection Kit eller ultraView Universal DAB Detection Kit:

BenchMark ULTRA-instrumentets farging mellom laboratorier og reproducerbarhet mellom dager: Tre laboratorier fra ulike institusjoner i USA deltok i reproducerbarhetsstudien mellom laboratorier. Objektglass med snitt fra 48 tilfeller med FFPE invasivt brystkarsinom [12 hver fra hver HER2-sorteringskategori (0, 1+, 2+, 3+)] og 1 par PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides for hver av 12 fargekjøringer ble distribuert til studiesteder for farging på en VENTANA BenchMark ULTRA automatisert fargemaskin ved hjelp av anbefalt fargingsprotokoll og ultraView Universal DAB Detection Kit. Kontroller inkluderte PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides og et andre objektglass med hvert tilfelle farget med negativ Ig-reagens. Patologer, blindet for tilfellets status, evaluerte objektglassene og oppga en klinisk score (dvs. 0, 1+, 2+, 3+). Resultatene ble analysert av Ventana. Ved hjelp av standard nomenklatur for 2x2 tabeller, ble gjennomsnittlig positiv overensstemmelse (APA) på tvers av steder beregnet som $[2a/(2a+b+c)]$, og gjennomsnittlig negativ overensstemmelse (ANA) beregnet som $[2d/(2d+b+c)]$. På tvers av alle steder var APA mellom stedene basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) 90,0 % (108/120), og ANA var 92,9 % (156/168). For parvise sammenligninger av steder ble APA beregnet som $a/(a+c)$, og ANA ble beregnet som $d/(b+d)$. APA-rater mellom stedene var 93,0 % (40/43), 87,2 % (34/39) og 89,5 % (34/38) for henholdsvis sted A vs. sted B, sted A vs. sted C og sted B vs. sted C. ANA-rater mellom stedene var 94,3 % (50/53), 91,2 % (52/57) og 93,1 % (54/58) for henholdsvis sted A vs. sted B, sted A vs. sted C og sted B vs. sted C.

Følgende tabeller er 3x3 presentasjoner av resultater for hver leser basert på klinisk score der 2+ og 3+ var separat.

Tabell 17. 3x3 analyse av overensstemmelsesrater mellom laboratorier for sted A vs. sted B – Clone 4B5 BenchMark ULTRA med ultraView Universal DAB Detection Kit.

Sted A	Sted B			
	3+	2+	0, 1+	Total
3+	12	2	0	14
2+	0	6	2	8
0, 1+	0	1	25	26
Total	12	9	27	48
Total overensstemmelse i prosent (OPA): n/N (%)				43/48 (89,6)

Tabell 18. 3x3 analyse av overensstemmelsesrater mellom laboratorier for sted A vs. sted C – Clone 4B5 BenchMark ULTRA-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

	Sted C			
Sted A	3+	2+	0, 1+	Total
3+	12	1	1	14
2+	0	4	4	8
0, 1+	0	0	26	26
Total	12	5	31	48
Total overensstemmelse i prosent (OPA): n/N (%)				42/48 (87,5)

Tabell 19. 3x3 analyse av overensstemmelsesrater mellom laboratorier for sted B vs. sted C – Clone 4B5 BenchMark ULTRA-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

	Sted C			
Sted B	3+	2+	0, 1+	Total
3+	12	0	0	12
2+	0	5	4	9
0, 1+	0	0	27	27
Total	12	5	31	48
Total overensstemmelse i prosent (OPA): n/N (%)				44/48 (91,7)

10. BenchMark ULTRA -instrumentets reproduserbarhet av farging mellom dager:

Delen av studien med reproduserbarhet mellom dager (IDR) inkluderte 12 tilfeller med en tiltenkt distribusjon av ca. tre (3) tilfeller ved hver kliniske score (0, 1+, 2+, 3+). Totalt ble de fem kjøringene på BenchMark ULTRA-instrumentet ved den enkelte institusjonen (sted C) som utførte IDR-delen av studien, gjennomført i løpet av minst 20 dager, slik at det ikke ble utført farging to dager på rad. IDR APA- og ANA-rater basert på klinisk vurdering av Clone 4B5-farging ved sted C på tvers av alle dager var begge 100 %. Totale overensstemmelsesnivåer i prosent (OPA) for sammenligninger mellom dager basert på kliniske score var 100 % for hver av sammenligningene fra dag til dag og for alle dagene kombinert.

11. Sammenligningsstudie av BenchMark ULTRA-fargingsplattform og BenchMark XT-fargingsplattform:

To fargingslaboratorier og tre avlesingssentre i USA deltok i plattformssammenligningsstudien. Objektglass med snitt fra 280 tilfeller av FFPE invasivt brystkarsinom [ca. 70 tilfeller fra hver HER2-sorteringskategori (0, 1+, 2+, 3+)] ble tilfeldig distribuert til to fargingssteder (140 tilfeller til hvert sted) for farging på et BenchMark XT-instrument og et BenchMark ULTRA-instrument ved hjelp av de respektive anbefalte fargingsprotokollene *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Kontroller inkluderte PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides og et andre objektglass med hvert tilfelle farget med negativ Ig-reagens. Fargede tilfeller fra sted 1 og sted 2 ble delt inn i fire objektglasssett og levert, ett sett om gangen, til tre ulike kvalifiserte lesere (patologer), én leser ved sted 1, én ved sted 2 og én ved sted 3. Patologene, blindet for tilfellets status og fargeplattform, evaluerte alle fire objektglasssett og oppga en klinisk score (dvs. 0, 1+, 2+, 3+) for hvert tilfelle. Resultatene ble analysert av Ventana. PPA-ratene (og nedre grense for de tosidige 95 % konfidensintervallene) for farging av Clone 4B5-antistoffet på BenchMark ULTRA-instrumentet vs. BenchMark XT-instrumentet basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) var 91,6 % (85,9), 91,2 % (85,3) og 94,9 % (89,3) for henholdsvis leser A, B og C. NPA-ratene (og nedre grense for de tosidige 95 % konfidensintervallene) for farging av Clone 4B5-antistoffet på BenchMark ULTRA-instrumentet vs. BenchMark XT-instrumentet basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) var 91,9 % (85,8), 93,8 % (88,3) og 99,3 % (96,3) for henholdsvis leser A, B og C. OPA mellom Clone 4B5-farging ved hjelp av BenchMark ULTRA-instrumentet vs. BenchMark XT-instrumentet basert på 2x2 analyse av klinisk vurdering (positiv, negativ) var 91,8 %, 92,5 % og 97,4 % for henholdsvis leser A,

B og C. Den 3x3-presentasjonen av overensstemmelsesrater mellom plattformer for hver leser basert på klinisk score (0/1+, 2+, 3+) vises i tabellene nedenfor:

Tabell 20. Overensstemmelsesgrader mellom plattformene BenchMark ULTRA-instrument vs. BenchMark XT-instrument med 3x3 analyse – leser A.

BenchMark ULTRA-instrument	BenchMark XT-instrument			
Leser A	3+	2+	0, 1+	Total
3+	84	11	1	96
2+	8	28	9	45
0, 1+	4	8	114	126
Total	96	47	124	267
Total overensstemmelse i prosent: n/N (%)				226/267 (84,6) (79,8 – 88,5) (95 % CI)

Tabell 21. Overensstemmelsesgrader mellom plattformene BenchMark ULTRA-instrument vs. BenchMark XT-instrument med 3x3 analyse – leser B.

BenchMark ULTRA-instrument	BenchMark XT-instrument			
Leser B	3+	2+	0, 1+	Total
3+	64	2	1	67
2+	3	56	7	66
0, 1+	2	10	122	134
Total	69	68	130	267
Total overensstemmelse i prosent: n/N (%)				242/267 (90,6) (86,5 – 93,6) (95 % CI)

Tabell 22. Overensstemmelsesgrader mellom plattformene BenchMark ULTRA-instrument vs. BenchMark XT-instrument med 3x3 analyse – leser C.

BenchMark ULTRA-instrument	BenchMark XT-instrument			
Leser C	3+	2+	0, 1+	Total
3+	64	1	0	65
2+	2	45	1	48
0, 1+	0	6	148	154
Total	66	52	149	267
Total overensstemmelse i prosent: n/N (%)				257/267 (96,3) (93,2 – 98,0) (95 % CI)

12. Reproduserbarhet mellom patologer av prøver fra sammenligningsstudier av plattformer:

Positive og negative overensstemmelsesrater med tosidig score på 95 % konfidensintervaller ble beregnet for de seks mulige parvise sammenligningene mellom lesere for hver plattform.

For BenchMark ULTRA-instrumentet var PPA-nivåer for leser A vs. B, A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B henholdsvis 94,7 % (126/133), 98,2 % (111/113), 98,2 % (111/113), 89,4 % (126/141), 78,7 % (111/141) og 83,5 % (111/133).

NPA-nivåer for leser A vs. B, A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B var henholdsvis 88,8 % (119/134), 80,5 % (124/154), 85,7 % (132/154), 94,4 % (119/126), 98,4 % (124/126) og 98,5 % (132/134). OPA-raten var høyest mellom leser A og leser B (91,8 %) og lavere mellom leser B og leser C (91,0 %) og leser A og leser C (88,8 %).

For BenchMark XT-instrumentet var PPA-nivåer for leser A vs. B, A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B henholdsvis 94,9 % (130/137), 98,3 % (116/118), 98,3 % (116/118), 90,9 % (130/143), 81,1 % (116/143) og 84,7 % (116/137). NPA-rater for leser A vs. B, A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B var henholdsvis 90,0 % (117/130), 81,9 % (122/149), 85,9 % (128/149), 94,4 % (117/124), 98,4 % (122/124) og 98,5 % (128/130). OPA-raten var høyest mellom leser A og leser B (92,5%) og lavere mellom leser B og leser C (91,4 %) og leser A og leser C (89,1 %).

13. Sammenligningsstudie av iVIEW DAB Detection Kit- til ultraView Universal DAB Detection Kit:

Sted 1-kohorten med 140 tilfeller av FFPE invasivt brystkarsinom [ca. 35 tilfeller fra hver HER-2 sorteringskategori (0, 1+, 2+, 3+)] ble brukt i en sammenligningsstudie av iVIEW DAB Detection Kit og ultraView Universal DAB Detection Kit ved farging med Clone 4B5 på en BenchMark ULTRA automatisert fargemaskin. Et enkelt fargingslaboratorium og tre avlesningssentre i USA deltok i deteksjonssammenligningsstudien. For farging av Clone 4B5-antistoff på BenchMark ULTRA-instrumentet var PPA-ratene mellom resultater oppnådd med iVIEW DAB Detection Kit og ultraView Universal DAB Detection Kit-metoder basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) 95,8 % (68/71), 96,9 % (63/65) og 96,5 % (55/57) for henholdsvis leser A, B og C, og NPA-ratene mellom deteksjonsmetoder var 90,8 % (59/65), 91,5 % (65/71) og 97,5 % (77/79) for henholdsvis leser A, B og C. OPA-ratene mellom deteksjonssett var 93,4 % (127/136), 94,1 % (128/136) og 97,1 % (132/136) for henholdsvis leser A, B og C. Den 3x3 presentasjonen av overensstemmelsesrater for deteksjonssammenligning for hver leser basert på klinisk score (0/1+, 2+, 3+) vises i tabellene nedenfor:

Tabell 23. Leser A, iVIEW DAB Detection Kit vs. ultraView Universal DAB Detection Kit overensstemmelsesrater 3x3 analyse – Clone 4B5-farging på BenchMark ULTRA-instrument.

iVIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Leser A	3+	2+	0, 1+	Total
3+	43	5	0	48
2+	3	17	6	26
0, 1+	0	3	59	62
Total	46	25	65	136
Total overensstemmelse i prosent: n/N (%) (95 % CI)			119/136 (87,5) (80,9 – 92,0)	

Tabell 24. Leser B, iVIEW DAB Detection Kit vs. ultraView Universal DAB Detection Kit overensstemmelsesrater 3x3 analyse – Clone 4B5-farging på BenchMark ULTRA-instrument.

iVIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Leser B	3+	2+	0, 1+	Total
3+	32	0	0	32
2+	0	31	6	37
0, 1+	1	1	65	67
Total	33	32	71	136
Total overensstemmelse i prosent: n/N (%) (95 % CI)			128/136 (94,1) (88,8 – 97,0)	

Tabell 25. Leser C, iVIEW DAB Detection Kit vs. ultraView Universal DAB Detection Kit overensstemmelsesrater 3x3 analyse – Clone 4B5-farging på BenchMark ULTRA-instrument.

iVIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Leser C	3+	2+	0, 1+	Total
3+	32	0	0	32
2+	0	23	2	25
0, 1+	0	2	77	79
Total	32	25	79	136
Total overensstemmelse i prosent: n/N (%) (95 % CI)			132/136 (97,1) (92,7 – 98,9)	

14. Reproduserbarhet mellom patologer av prøver fra sammenligningstudier av deteksjon:

Positive og negative overensstemmelsesnivåer med tosidig score 95 % konfidensintervaller ble beregnet for de seks mulige parvise sammenligningene mellom lesere for hver metode.

For iVIEW DAB Detection Kit var PPA-rater for leser A vs. B, A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B henholdsvis 100,0 % (69/69), 98,2 % (56/57), 96,5 % (55/57), 93,2 % (69/74), 75,7 % (56/74) og 79,7 % (55/69). NPA-nivåer for leser A vs. B,

A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B var 92,5 % (62/67), 77,2 % (61/79), 82,3 % (65/79), 100,0 % (62/62), 98,4 % (61/62) og 97,0 % (65/67). Det totale overensstemmelsesnivået var høyest mellom leser A og leser B (96,3 %) og lavere mellom leser A og leser C (86,0 %) og leser B og leser C (88,2 %).

For ultraView Universal DAB Detection Kit var PPA-rater for leser A vs. B, A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B henholdsvis 96,9 % (63/65), 98,2 % (56/57), 98,2 % (56/57), 88,7 % (63/71), 78,9 % (56/71) og 86,2 % (56/65). NPA-rater for leser A vs. B, A vs. C, B vs. C, B vs. A, C vs. A og C vs. B var henholdsvis 88,7 % (63/71), 81,0 % (64/79), 88,6 % (70/79), 96,9 % (63/65), 98,5 % (64/65) og 98,6 % (70/71). De totale overensstemmelsesnivåene var lignende for hvert leserpar, henholdsvis 92,6 % (126/136), 88,2 % (120/136) og 92,6 % (126/136) for leser A vs. B, leser A vs. C og leser B vs. C.

YTELSESEGENSKAPER I MAGETILFELLER

1. Repeterbarhet mellom kjøringene på BenchMark XT-instrumentet ble utført i fem kjøringene utført i løpet av en 5-dagers (ikke sammenhengende) periode. Fem objektglass med tre tilfeller av magevev med scoringer på 0, 1+, 2+ og 3+ HER2-uttrykk demonstrerte 100 % overensstemmelse innenfor den positive/negative verdien for hvert vev.
2. Repeterbarhet mellom kjøringene på BenchMark XT-instrumentet ble utført på 28 objektglass med tilfeller av magevev med scoringer på 0, 1+, 2+ og 3+ HER2-uttrykk. Alle tilfeller hadde tilsvarende score innenfor den positive/negative verdien for hver vevstype.
Repeterbarhet innen én plattform ble utført på tvers av tre BenchMark XT-instrumenter. I disse kjøringene oppnådde alle 30 objektglassene fra hver av de to ulike multivevsblokkene med tre tilfeller av magevev med scoringer på 0, 1+, 2+ og 3+ HER2-uttrykk tilsvarende score innenfor den positive/negative verdien for hver vevstype.
Repeterbarhet innen én plattform ble testet på tvers av tre BenchMark ULTRA-instrumenter. I disse kjøringene oppnådde alle 15 objektglassene fra én multivevsblokk tilsvarende score innenfor den positive/negative verdien for hver vevstype.
Repeterbarhet mellom plattformer ble testet på tvers av tre BenchMark XT- og tre BenchMark ULTRA-instrumenter. I disse kjøringene oppnådde alle 30 objektglassene fra én multivevsblokk tilsvarende score innenfor den positive/negative verdien for hver vevstype.
- 3.

Sammenligning av iVIEW DAB Detection Kit og ultraView Universal DAB Detection Kit ved bruk av magetifeller:

Clone 4B5 ble brukt til å utføre sammenligningstesting av deteksjonssett på tvers av to instrumenter (BenchMark XT-instrument og BenchMark ULTRA-instrument) ved bruk av iVIEW DAB Detection Kit og ultraView Universal DAB Detection Kit. To hundre og ti vevstifeller ble brukt som en del av testingen. De fargede objektglassene ble vurdert for positiv/negativ klinisk scoring.

Ratene for morfologi- og bakgrunnsakseptabilitet var 100 % for både deteksjonssett og instrumenter. Direkte sammenligninger for positiv og negativ klinisk vurdering mellom deteksjonssett for hvert instrument presenteres i følgende tabeller.

Tabell 26. Klinisk vurdering av ultraView Universal DAB Detection Kit versus iVIEW DAB Detection Kit på BenchMark XT-instrumentet.

ultraView Universal DAB Detection Kit	iVIEW DAB Detection Kit		
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	21	0	21
Negativ	0	189	189
Total	21	189	210
	n/N	%	
Positiv prosent samsvar	21/21	100	
Negativ prosent samsvar	189/189	100	
Helhetlig prosent samsvar	210/210	100	

Tabell 27. Sammenligning av klinisk vurdering på BenchMark XT og BenchMark ULTRA-fargingsplattformene ved bruk av ultraView Universal DAB Detection Kit.

BenchMark XT fargingsplattform med ultraView Universal DAB Detection Kit	BenchMark ULTRA fargingsplattform med ultraView Universal DAB Detection Kit		
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	20	1	21
Negativ	0	189	189
Total	20	190	210
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv prosent samsvar	20/20	100 (83,9-100)	
Negativ prosent samsvar	189/190	99,5 (97,1-99,9)	
Helhetlig prosent samsvar	209/210	99,5 (97,4-99,9)	

4. Sammenligning av Clone 4B5 med HercepTest ved human mageskreft:

En blindet, ekstern studie ble gjennomført for å sammenligne fargingsytelsen til Clone 4B5 på BenchMark XT-instrumentet med den til Dako HercepTest. Ca. 239 tilfeller av mageskreft ble testet i studien sammen med 159 tilfeller fra TARGOS-laboratoriet, fra ToGa-forsøket som undersøkte HER2-status og kliniske resultater hos pasienter behandlet med Herceptin. Laboratoriet farget tilfellene med Clone 4B5 og HercepTest. En patolog scorete tilfellene på en skala på 0/1+, 2+ og 3+. Positive tilfeller består av scoringer på 2+ og 3+, mens negative tilfeller er 0 og 1+.

Tabell 28 og 29 inkluderer overensstemmelsesrater mellom Clone 4B5 og HercepTest, angitt etter vevskilde. Tabell 28 sammenligner positive vs. negative resultater, mens tabell 29 bruker en 3-kategoriers IHC-skala på 0/1+, 2+ og 3+. Den totale overensstemmelsen for alle vev i tabell 28 og 29 er henholdsvis 91,0 % og 95,3 %.

Tabell 28. Overensstemmelsesrater i prosent og 95 % konfidensintervaller for Clone 4B5 (IHC) vs. HercepTest, angitt etter vevskilde. Begge IHC-tester ble scoret som positive vs. negative (0/1+ vs. 2+/3+).

n	Total overensst. i prosent (95 % CI)	n	Generell overensst. i prosent (95 % CI)	n	Negativ overensst. i prosent (95 % CI)
362/398	91,0 (87,7 – 93,4)	46/56	82,1 (70,2 – 90,0)	316/342	92,4 (89,1 – 94,8)

Tabell 29. Generell overensstemmelsesrater i prosent og 95 % konfidensintervaller for Clone 4B5 (IHC) vs. HercepTest, angitt etter vevskilde. IHC-tester ble scoret som 0/1+, 2+ eller 3+.

Vevskilde	n	Total overensst. i prosent (95 % CI)
TMA og ToGA	355/398	89,2 (85,8 – 91,9)

- Reproduserbarhet av Clone 4B5 mellom laboratorier: Studien ble utført ved tre teststeder. Prøver ble valgt for inklusjon i studien basert på Clone 4B5 IHC klinisk score, slik at det var et omtrentlig likt antall av positive (3+) og negative (0, 1+) tilfeller. I tillegg ble opptil fire tilfeller av 2+ kvalifiserte tilfeller av mageskreft undersøkt.

Hvert av de tre stedene brukte en BenchMark XT-plattform og en BenchMark ULTRA-plattform til å utføre fire fargekjøringer per plattform. Tilfeller ble randomisert for farging ved bruk av en stratifisert randomiseringsprosedyre som distribuerte tilfeller slik at hver kjøring inneholdt tilfeller som representerer alle scoringskategorier for HER2 i mageskreft. Kjøringene på hvert instrument ved hvert sted inneholdt de samme tilfellene. Ved hvert sted ble ett objektglass fra hvert tilfelle farget med Clone 4B5 og et annet objektglass fra samme tilfelle farget med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig på BenchMark ULTRA-plattformen. Et sekundært par objektglass fra samme tilfelle ble farget på samme måte på BenchMark XT-plattformen ved hvert sted. Objektglass med tilfeller ble scoret av én kvalifisert leser ved hvert sted, blindet til tidligere fastslåtte IHC kliniske scoringer for hver prøve.

Den totale overensstemmelsen for alle evaluerbare tilfeller var 100 % for alle tre sammenligninger mellom steder på både BenchMark ULTRA-plattformen og BenchMark XT-plattformen. Den totale overensstemmelsen mellom BenchMark ULTRA-plattformen og BenchMark XT-plattformen for evaluerbare tilfeller var 100 % ved hvert av de tre stedene. Rater for bakgrunns- og morfologiakseptabilitet for alle tilfeller var 100 % for begge plattformer ved sted A og C, og >95 % for begge plattformer ved sted B. Se tabellene nedenfor.

Tabell 30. Total overensstemmelse for klinisk vurdering mellom steder: Alle evaluerbare tilfeller.

BenchMark ULTRA-instrument	Total overensstemmelse i prosent
Sted A vs. sted B: n/N (%) (95 % CI)	30/30 (100 %) (88,6 – 100)
Sted A vs. sted C: n/N (%) (95 % CI)	30/30 (100 %) (88,6 – 100)
Sted B vs. sted C: n/N (%) (95 % CI)	30/30 (100 %) (88,6 – 100)
BenchMark XT-instrument	Total overensstemmelse i prosent
Sted A vs. sted B: n/N (%) (95 % CI)	31/31 (100 %) (89,0 – 100,0)
Sted A vs. sted C: n/N (%) (95 % CI)	31/31 (100 %) (89,0 – 100,0)
Sted B vs. sted C: n/N (%) (95 % CI)	31/31 (100 %) (89,0 – 100,0)

Tabell 31. Total overensstemmelse for klinisk vurdering mellom plattformer: Alle evaluerbare tilfeller.

BenchMark ULTRA-instrument vs. BenchMark XT-instrument	Total overensstemmelse i prosent
Sted A: n/N (%) (95 % CI)	40/40 (100 %) (91,2 – 100)
Sted B: n/N (%) (95 % CI)	34/34 (100 %) (89,8 – 100)
Sted C: n/N (%) (95 % CI)	32/32 (100 %) (89,3 – 100)

Tabell 32. Rater for bakgrunnsfargings- og morfologiakseptabilitet: Alle tilfeller.

BenchMark ULTRA-instrument	Sted A	Sted B	Sted C
Rater for morfologiakseptabilitet	44/44 (100 %)	43/44 (97,7 %)	44/44 (100 %)
Rater for bakgrunnsakseptabilitet	44/44 (100 %)	42/44 (95,5 %)	44/44 (100 %)
BenchMark XT-instrument	Sted A	Sted B	Sted C
Rater for morfologiakseptabilitet	44/44 (100 %)	43/44 (97,7 %)	44/44 (100 %)
Rater for bakgrunnsakseptabilitet	44/44 (100 %)	43/44 (97,7 %)	44/44 (100 %)

6. Sammenligningsstudie av BenchMark-fargeplattform og BenchMark GX-fargeplattform og BenchMark XT-fargeplattform:

Objektglass med snitt fra 3 TMA-er som inneholder tilfeller med FFPE-magekarsinom [ca. 50 tilfeller pr. TMA], ble farget på et BenchMark XT-instrument, BenchMark-instrument og BenchMark GX-instrument ved bruk av de respektive anbefalte fargingsprotokollene for *ultraView* Universal DAB Detection Kit og *VIEW* DAB Detection Kit. Kontroller inkluderte PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides og et andre objektglass med hvert TMA farget med negativ Ig-reagens. Fargede objektglass ble scoret av én leser (patolog).

De totale overensstemmelsesratene (og nedre grense for de tosidige 95 % konfidensintervallene) for Clone 4B5-antistofffarging basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) var som følger: BenchMark-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit 98,0 % (94,2 – 99,3), BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit 97,4 % (93,6 – 99,0), BenchMark-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *VIEW* DAB Detection Kit 96,6 % (92,7 – 98,4), BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *VIEW* DAB Detection Kit 95,9 % (91,8 – 98,0).

De positive overensstemmelsesratene (og nedre grense for de tosidige 95 % konfidensintervallene) for Clone 4B5-antistofffarging basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) var som følger: BenchMark-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit 91,7 % (64,4 – 98,5), BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT-instrument with *ultraView* Universal DAB Detection Kit 78,6 % (52,4 – 92,4), BenchMark-instrument vs. BenchMark XT med *VIEW* DAB Detection Kit 80,0 % (54,8 – 93,0), BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT med *VIEW* DAB Detection Kit 73,3 % (48,0 – 89,1).

De negative overensstemmelsesratene (og nedre grense for de tosidige 95 % konfidensintervallene) for Clone 4B5-farging basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) var som følger: BenchMark-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit 98,5 % (94,8 – 99,6), BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit 99,3 % (96,1–99,9), BenchMark-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *VIEW* DAB Detection Kit 98,1 % (94,6–99,4), BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *VIEW* DAB Detection Kit 98,1 % (94,5 – 99,3). Den 2x2 presentasjonen av overensstemmelsesratene for hver sammenligning basert på klinisk vurdering (positiv, negativ) vises i tabellene nedenfor.

Tabell 33. Overensstemmelsesrater mellom plattformene BenchMark-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit 2x2 analyse.

Clone 4B5 med <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit			
BenchMark-instrument	BenchMark XT-instrument		
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	11	2	13
Negativ	1	133	134
Total	12	135	147
	n/N	% (95 % CI)	
Helhetlig prosent samsvar	144/147	98,0 % (94,2–99,3)	
Positiv prosent samsvar	11/12	91,7 % (64,6–98,5)	
Negativ prosent samsvar	133/135	98,5 % (94,8–99,6)	

Tabell 34. Overensstemmelsesrater mellom plattformene BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit 2x2 analyse.

Clone 4B5 med <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit			
BenchMark GX - instrument	BenchMark XT-instrument		
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	11	1	12
Negativ	3	140	143
Total	14	141	155
	n/N	% (95 % CI)	
Helhetlig prosent samsvar	151/155	97,4 % (93,6 – 99,0)	
Positiv prosent samsvar	11/14	78,6 % (52,4 – 92,4)	
Negativ prosent samsvar	140/141	99,3 % (96,1 – 99,9)	

Tabell 35. Overensstemmelsesrater mellom plattformene BenchMark-instrument vs. BenchMark XT-instrument med *VIEW* DAB Detection Kit, 2x2 analyse.

Clone 4B5 med <i>VIEW</i> DAB Detection Kit			
BenchMark-instrument	BenchMark XT-instrument		
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	12	3	15
Negativ	3	156	159
Total	15	159	174
	n/N	% (95 % CI)	
Helhetlig prosent samsvar	168/174	96,6 % (92,7 – 98,4)	
Positiv prosent samsvar	12/15	80,0 % (54,8 – 93,0)	
Negativ prosent samsvar	156/159	98,1 % (94,6 – 99,4)	

Tabell 36. Overensstemmelsesrater mellom plattformene BenchMark GX-instrument vs. BenchMark XT-instrument med /VIEW DAB Detection Kit, 2x2 analyse.

Clone 4B5 med /VIEW DAB Detection Kit			
BenchMark GX-instrument	BenchMark XT-instrument		
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	11	3	14
Negativ	4	154	158
Total	15	157	172
	n/N	% (95 % CI)	
Helhetlig prosent samsvar	165/172	95,9 % (91,8 – 98,0)	
Positiv prosent samsvar	11/15	73,3 % (48,0 – 89,1)	
Negativ prosent samsvar	154/157	98,1 % (94,5 – 99,3)	

Konklusjon:Data fra disse studiene indikerer at VENTANA HER2 (4B5) var spesifikk og reproducerbar mht. dets evne til å farge neoplastisk bryst- og magevev på en passende måte. Metodesammenligning og reproducerbarhetsdata mellom laboratoriene viste at VENTANA HER2 (4B5) er indisert som hjelpemiddel i vurderingen av pasienter med bryst- og magekreft der behandling med Herceptin overveies.

YTELSESEGESKAPER – PERJETA OG KADCYLA

HER2 Breast – Metodesammenligningsstudie med registreringsanalyse av studier av Perjeta og Kadcyla i brystkarsinom

Ekvivalens til registreringsanalyse for kohorter fra Perjeta- og Kadcyla-studier ble bestemt av farging av studieprøver med VENTANA anti-HER2/neu (4B5) monoklonalt, primært antistoff fra kanin. 2753 prøver evaluert for en Perjeta-studie og 99 prøver evaluert for en Kadcyla-studie ble farget med VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (VENTANA HER2 (4B5)). *Positive (PPA), Negative (NPA) og Generelle (OPA) prosentoverensstemmelsesnivåer ble bestemt.* Konfidensintervallet på 95 % (2-sidig 95 % konfidensintervall) ble beregnet med scoringsmetoden.

Tabell 37. Overensstemmelse mellom Clone 4B5 og Dako-analysen på HER2-status for alle testpersoner som kan evalueres for HER2. Testpersoner som kan evalueres for IHC har positiv eller negativ HER2-status bestemt av både Clone 4B5-analysen og registrerings-IHC-analysen.

Studie	Clone 4B5-skår [b]	DAKO HER2-status [a] [b]		
		Positiv	Negativ	Total
Perjeta og Kadcyla	3+	2380	15	2395
	2+	140	122	262
	0/1+	38	135	173
	Total	2558	272	2830
Positiv prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%)		2380/2558 (93,0)		
(konfidensintervall på 95 %)		(92,0–94,0)		
Negativ prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%)		257/272 (94,5)		
(konfidensintervall på 95 %)		(91,1–96,6)		
Generell prosentoverensstemmelse (OPA) n/N (%)		2637/2830 (93,2)		
(konfidensintervall på 95 %)		(92,2–94,1)		

[a] Positiv = IHC-positiv og/eller ISH-forsterket. Negativ = IHC-negativ og ikke ISH-forsterket eller ISH ikke-forsterket og ikke IHC-positiv.

[b] IHC: Positiv = 3+; Negativ = 0, 1+ eller 2+.

Tabell 38. Overensstemmelse med Clone 4B5- og Dako-analyser med IHC-status for alle testpersoner som kan evalueres for IHC. Testpersoner som kan evalueres for IHC har positiv eller negativ HER2-status bestemt av både Clone 4B5-analysen og registrerings-IHC-analysen.

Studie	Clone 4B5-status [a]	Dako HercepTest-status [a]		Total
		Positiv	Negativ	
Perjeta og Kadcyła	Positiv	2330	65	2395
	Negativ	21	414	435
	Total	2351	479	2830
	Positiv prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	2330/2351 (99,1) (98,6–99,4)		
	Negativ prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	414/479 (86,4) (83,1–89,2)		
	Generell prosentoverensstemmelse (OPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	2744/2830 (97,0) (96,3–97,5)		
Perjeta	Positiv	2267	63	2330
	Negativ	10	399	409
	Total	2277	462	2739
	Positiv prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	2267/2277 (99,6) (99,2–99,8)		
	Negativ prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	399/462 (86,4) (82,9–89,2)		
	Generell prosentoverensstemmelse (OPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	2666/2739 (97,3) (96,7–97,9)		
Kadcyła	Positiv	63	2	65
	Negativ	11	15	26
	Total	74	17	91
	Positiv prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	63/74 (85,1) (75,3–91,5)		
	Negativ prosentoverensstemmelse (PPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	15/17 (88,2) (65,7–96,7)		
	Generell prosentoverensstemmelse (OPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	78/91 (85,7) (77,1–91,5)		

[a] Positiv = 3+; Negativ = 0, 1+ eller 2+.

Tabell 39. Overensstemmelse av Clone 4B5-analyser og Dako-analyser med IHC-scor for alle testpersoner som kan evalueres for IHC. Testpersoner som kan evalueres for IHC har positiv eller negativ HER2-status bestemt av både Clone 4B5-analysen og registrerings-IHC-analysen.

Studie	Clone 4B5-skår	Dako HercepTest-scor			Total
		3+	2+	0/1+	
Perjeta og Kadcylla	3+	2330	64	1	2395
	2+	12	235	15	262
	0/1+	9	26	138	173
	Total	2351	325	154	2830
	Generell prosentoverensstemmelse (OPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	2703/2830 (95,5) (94,7–96,2)			
Perjeta	3+	2267	62	1	2330
	2+	9	226	13	248
	0/1+	1	24	136	161
	Total	2277	312	150	2739
	Generell prosentoverensstemmelse (OPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	2629/2739 (96,0) (95,2–96,7)			
Kadcylla	3+	63	2	0	65
	2+	3	9	2	14
	0/1+	8	2	2	12
	Total	74	13	4	91
	Generell prosentoverensstemmelse (OPA) n/N (%) (konfidensintervall på 95 %)	74/91 (81,3) (72,1–88,0)			

Tabell 40. Clone 4B5 fargeakseptabilitet. Testpersoner testet for IHC. IHC-farging anses som akseptabel hvis en gyldig IHC-scor (0, 1+, 2+ eller 3+) kan bestemmes. Årsaker for uakseptabel farging inkluderer uakseptabel negativ kontroll, vevstap, utilstrekkelig tumor, uakseptabel bakgrunn og uakseptabel morfologi.

Parameter	Perjeta	Kadcylla	Perjeta og Kadcylla
Antall første IHC-tester	2753	99	2852
Første fargingsakseptabilitet n/N (%) (95 % CI)	2708/2753 (98,4) (97,8, 98,8)	92/99 (92,9) (86,1, 96,5)	2800/2852 (98,2) (97,6, 98,6)
Antall gjentatte IHC-tester	40	0	40
Siste fargingsakseptabilitet n/N (%) (95 % CI)	2746/2753 (99,7) (99,5, 99,9)	92/99 (92,9) (86,1, 96,5)	2838/2852 (99,5) (99,2, 99,7)

FEILSØKING

- Hvis den positive kontrollen har svakere farging enn forventet, skal andre positive kontroller som ble kjørt under samme instrumentkjøring, kontrolleres for å fastslå om dette skyldes det primære antistoffet eller en av de vanlige sekundære reagensene.
- Hvis den positive kontrollen er negativ, skal den kontrolleres for å sikre at objektglasset har korrekt strekkodeetikett. Hvis objektglasset har riktig strekkodeetikett, bør andre positive kontroller som kjøres på samme tid, sjekkes for å fastslå om det skyldes primærantistoffet eller en av de vanlige sekundære reagensene. Vev vil kunne være innsamlet, fiksert eller avparafinert på uriktig måte. Riktig prosedyre må følges ved innsamling, oppbevaring og fiksering.
- Hvis ikke all parafin er fjernet, er det mulig at det ikke finnes noe farging. Avparafineringsprosedyren bør gjentas.
- Hvis spesifikk antistofffarging er for intens, skal kjøringen gjentas med kortere inkubasjonstid til ønsket fargingsintensitet er oppnådd.
- Hvis vevssnitt vaskes av objektglasset, skal objektglassene kontrolleres for å sikre at de er positivt ladet.
- Hvis det finnes nukleær og cytoplasmisk farging i normale slimhinner i nærheten av tumorområdet i magekreft, og dette forvirrer tolkningen av membranfarging, kan tilfellet testes med ISH.

- Du finner korrigerende tiltak i avsnittet Trinnvis prosedyre, i brukerhåndboken for instrumentet eller ved å kontakte din lokale representant.

REFERANSER

- Akiyama T, et al. The product of the human c-erbB-2 Gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. Science. 1986;232: 1644-1646.
- Kraus MH, Popescu NC, Amsbaugh C, King RC. Overexpression of EGF receptor-related proto-oncogene erbB-2 in human mammary tumor cell lines by different molecular mechanisms. EMBO. 1987; 6: 605-610.
- Dickson RB, and Lippman ME. Genes, Oncogenes, and Hormones. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1992.
- Keatings, L. et al. c-erbB-2 oncoprotein expression in mammary and extramammary Paget's disease: an immunohistochemical study. Histopathology. 1990;17: 234-247.
- Herceptin (Trastuzumab) [Package Insert]. EMEA (European Medicines Agency). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000278/WC500074922.pdf. Published 01/03/2010. Updated 04/02/2011. Accessed October 2010.
- Roche PC. Immunohistochemical stains for breast cancer. Mayo Clin Proc. 1994;69: 57-58.

7. Charpin C, et al. c-erbB-2 oncoprotein detected by automated quantitative immunocytochemistry in breast carcinomas correlates with patients' overall and disease-free survival. *Br J Cancer*. 1997;75: 667-1673.
8. Corbett IP, et al. NCL-CB11: a new monoclonal antibody recognizing the internal domain of the c-erbB-2 oncogene protein, effective for use on formalin fixed, paraffin-embedded tissue. *J Pathol*. 1990;161:15-25.
9. Nicholson RI, et al. Relationship between EGF-R, c-erbB-2 protein expression and Ki67 immunostaining in breast cancer hormone sensitivity. *Eur J Cancer*. 1993;29A:1018-1023.
10. DePotter CR, et al. The expression of the neu oncogene product in breast lesions and in normal fetal and adult human tissues. *Histopathology*. 1989;15:351-362.
11. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
12. Department of Health, Education and Welfare, National Institute of Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ No. 78-127, Current 13. August 16, 1976.
13. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2010.
14. 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.
15. Hoffmann M, et al. *Histopathology*. 2008;52:797-805.
16. Rüschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenard MP, Penault-Llorca F, Nagelmeier I, Schlake W, Höfler H, Kreipe HH. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch*. 2010;457(3):299-307.
17. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem*. 1991;66(4):194-199.
18. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol*. 1980;73(5):626-32.
19. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med*. 1983;14:767.
20. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.
21. Thomson TA, Hayes MM, Spinelli JJ, Hiland E, Sawrenko C, and Phillip D, et al. HER-2/neu in breast cancer: interobserver variability and performance of immunohistochemistry with 4 antibodies compared with fluorescent in situ hybridization, *Mod Pathol*. 2001;14:1079-86.
22. Kay EW, Walsh CJ, Cassidy M, Curran B, Leader M. C-erbB-2 immunostaining: problems with interpretation. *J Clin Pathol*. 1994;47:816-22.
23. Bilous M, Dowsett M, Hanna W, Isola J, Lebeau A, Moreno A, Penault-Llorca F, Rüschoff J, Tomasic G, van de Vijver M. Current Perspectives on HER2 Testing: A Review of National Testing Guidelines. *Mod Pathol*. 2003;16:173-182.
24. Rhodes A, Sarson J, et al. The reliability of rabbit monoclonal antibodies in the immunohistochemical assessment of estrogen receptors, progesterone receptors, and HER2 in human breast carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 2010;134(4): 621-32.
25. van der Vegt B, de Bock GH, Bart J, Zwartjes NG, Wesseling J. Validation of the 4B5 rabbit monoclonal antibody in determining HER2 status in breast cancer. *Mod Pathol*. 2009;22(7):879-886.
26. Mayr D, Heim S, Werhan C, Zeindl-Eberhart E, Kirchner T. Comprehensive immunohistochemical analysis of Her-2/neu oncoprotein overexpression in breast cancer: HercepTest (Dako) for manual testing and Her-2/neu Test 4B5 (Ventana) for Ventana BenchMark automatic staining system with correlation to results of fluorescence in situ hybridization (FISH). *Virchows Arch*. 2009;454(3):241-8 (Epub: 24 Jan 2009).
27. Itoh H, Kato N, Serizawa A, Itoh T, Umemura S, Osamura RY. HER2 Rabbit Monoclonal Antibody 4B5 and Silver SISH: High Performance in Surgical Pathology for Appropriate Patient Care. *Laboratory Investigation*. 2009;89(1): 48A.
28. Powell WC, Roche PC, Tubbs RR. A New Rabbit Monoclonal Antibody (4B5) for the Immunohistochemical (IHC) Determination of the HER2 Status in Breast Cancer: Comparison With CB11, Fluorescence In Situ Hybridization (FISH), and Interlaboratory Reproducibility. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2008;16(6):569.
29. Carbone A, Botti G, et al. Delineation of HER2 gene status in breast carcinoma by silver in situ hybridization is reproducible among laboratories and pathologists. *J Mol Diagn*. 2008;10(6): 527-36.
30. Wolff AC, Hammond ME, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(1):18.
31. Baselga J, Gelmon KA, Verma S, Wardley A, Conte P, Miles D, Bianchi G, Cortes J, McNally VA, Ross GA, Fumoleau P, Gianni L. Phase II trial of pertuzumab and trastuzumab in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer that progressed during prior trastuzumab therapy. *J Clin Oncol*. 2010 Mar 1;28(7):1138-44.
32. Swain SM, Kim SB, Cortés J, Ro J, Semiglazov V, Campone M, Ciruelos E, Ferrero JM, Schneeweiss A, Knott A, Clark E, Ross G, Benyunes MC, Baselga J. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2013 May;14(6):461-71.
33. Hurvitz SA, Dirix L, Kocsis J, Bianchi GV, Lu J, Vinholes J, Guardino E, Song C, Tong B, Ng V, Chu YW, Perez EA. Phase II randomized study of trastuzumab emtansine versus trastuzumab plus docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Mar 20;31(9):1157-63.
34. <http://www.kadcyla.com/hcp>
35. <http://www.perjeta.com/hcp>

OPPHAVSRETT

BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView*, PATHWAY, VENTANA og VENTANA-logoen er varemerker tilhørende Roche.

Alle andre varemerker tilhører sine respektive eiere.

© 2013 Ventana Medical Systems, Inc.

KLAKTAKTINFORMASJON



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany



www.ventana.com