

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

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

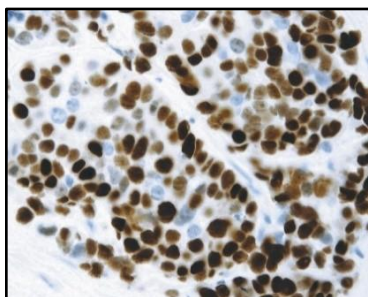


Fig. 1. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffarvning af ductalt brystkarcinom.

TILSIGTET ANVENDELSE

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody er beregnet til anvendelse i laboratoriet til kvalitativ detektion af progesteronreceptor (PR)-antigen i snit af formalinfikseret og paraffinindstøbt væv på et VENTANA automatisk farvningssystem med VENTANA detektionskits og hjælpereagenser. CONFIRM anti-PR (1E2) er rettet mod en epitop, der findes i humant progesteronreceptorprotein placeret i kernen af PR-positive, normale og neoplastiske celler.

CONFIRM anti-PR (1E2) er indiceret som hjælp til administration, prognostisering og forudsigelse af hormonbehandling mod brystkarcinom.

Dette produkt skal fortolkes af en kvalificeret patolog og sammenholdes med histologisk undersøgelse, relevante kliniske oplysninger og egnede kontroller.

Receptpligtigt.

Dette antistof er beregnet til in vitro diagnostisk (IVD) brug.

RESUMÉ OG FORKLARING

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof) er et monoklonalt kanin-antistof, der genkender A- og B-isoformerne af human progesteronreceptor (PR). Immunogenet blev udviklet ud fra et syntetisk peptid identificeret som et område med potentiel høj antigenicitet, som er hyppigt for progesteronreceptorform A og B. Peptidet blev syntetiseret og kovalent bundet til keyhole-hæmocyantin fra albieskæl for at øge antigeniciteten yderligere. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof har vist sig at reagere med 60 kD-, 87 kD- og 110 kD-proteiner fra T47D-celler via Western blot. Protein størrelserne stemmer overens med den forudsagte molekylvægt af progesteronreceptorform A, B og C.¹

PR er en kernehormonreceptor, der kodes af et enkelt gen (PGR).^{1,2} PR-aktivitet reguleres af den nært beslægtede kernehormonreceptor, østrogenreceptoren (ER). De koordinerede aktiviteter af ER og PR er drivkraften ved normal mælkekirteludvikling og er nødvendig for differentiering og proliferation i brystepitel hos voksne.^{1,2,3}

Brystkræft er den hyppigste årsag til kræftrelateret død hos kvinder.⁴ Diagnosen og behandlingen af sygdommen afhænger af tidlig detektion kombineret med en passende behandlingsstrategi baseret på prognostiske og prædiktive faktorer.^{5,6} Den etablerede diagnostiske udredning af brystkræft er en kombination af fysisk undersøgelse, billeddannelse og patologisk vurdering.⁵

ER er en af modellerne for tumormarkører til behandling af patienter med brystkræft. Kliniske retningslinjer og anbefalinger om bedste praksis foreskriver, at ER-status skal evalueres i alle tilfælde af primær invasiv brystkræft for at identificere patienter, der sandsynligvis vil reagere på endokrine former for behandling.^{5,6} Selektive østrogenreceptormodulatorer blokerer østrogen-medieret kræftvækst ved at afbøde ER-hyperaktivitet og anvendes som endokrin terapi til patienter, der overudtrykker receptoren.^{6,7}

I praksis reagerer næsten halvdelen af ER-positive patienter ikke på endokrin behandling, et fænomen forbundet med malign transformation af receptoren i cancerøse læsioner.⁸

PR-overekspression kan anvendes til yderligere at karakterisere brysttumoren og forudsige terapeutisk respons ved at fungere som en reporter til at evaluere den funktionelle status for ER.^{8,9} I 1975 blev det antaget, at overekspressionen af PR kan være en prædiktiv markør for respons på endokrin terapi.⁸ Efterfølgende forsøg bekræftede den prædiktive og prognostiske værdi af PR.^{10,11} Et højere niveau af PR-ekspression er en indikator for bedre respons på endokrin terapi.¹⁰

Detektionen af PR er en hjørnesten i behandlingen af patienter med invasiv brystcancer.^{5,6,9} Retningslinjer og anbefalinger om bedste praksis understreger, at immunhistokemi (IHC) er den foretrukne metode til at detektere PR i brystkræft.⁹ Derfor kan den IHC-baserede detektion af PR med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof anvendes som en hjælp under behandlingen, prognosen og prædiktionen af terapieresultatet for brystcancer.

PROCEDURENS PRINCIP

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof binder sig til PR i formalinfikserede og paraffinindstøbte (FFPE) vævssnit. Det specifikke antistof kan lokaliseres ved enten en biotinkonjugeret sekundær antistofformulering, der genkender kaninimmunoglobuliner, efterfulgt af tilsætning af et streptavidin peberrodsperoxidase-konjugat (HRP) (VIEW DAB Detection Kit) eller et sekundært antistof-HRP-konjugat (ultraView Universal DAB Detection Kit). Det specifikke antistof-enzymkompleks visualiseres derefter med et udfældende enzymreaktionsprodukt.

Kliniske tilfælde skal evalueres inden for rammerne af ydeevnen af passende kontroller. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) anbefaler, at der medtages en positiv vævskontrol, der er fikseret og behandlet på samme måde som patientpræparatet (for eksempel et svagt positivt brystcancer eller uterus). Ud over farvning med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof skal et andet objektglas farves med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. For at testen kan betragtes som gyldig, skal det positive kontrolvæv udvise kemifarvning af tumorceller eller uterine kirtler og stroma. Disse komponenter skal være negative, når de farves med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Derudover anbefales det, at der medtages et negativt vævskontrolobjektglas (for eksempel et PR-negativt brystcancer) for hver batch af prøver, der behandles og køres på BenchMark IHC/ISH-instrumentet. Denne negative vævskontrol skal farves med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof for at sikre, at antigenforbedringen og andre forbehandlingsprocedurer ikke dannede falsk positiv farvning.

LEVERET MATERIALE

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof (kat.nr. 790-2223) indeholder tilstrækkeligt med reagens til 50 tests.

En 5-mL-dispenser med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof indeholder cirka 5 µg monoklonale kanin-antistoffer rettet mod humant PR-antigen.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof (kat.nr. 790-4296) indeholder tilstrækkeligt med reagens til 250 tests.

En 25-mL-dispenser med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof indeholder cirka 25 µg monoklonale kanin-antistoffer rettet mod humant PR-antigen.

Antistoffet fortyndes i Tris-HCl med bærerprotein og 0.1 % ProClin 300 som konserveringsmiddel. Der er spor (~ 0.2 %) af kalvefosterserum af amerikansk oprindelse fra stamopløsningen.

Specifik antistoffkoncentration er cirka 1 µg/mL. Der er ikke observeret nogen kendt, uspecifik antistoffreaktivitet i dette produkt.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof er et monoklonalt kanin-antistof fremstillet som cellekultursupernatant.

Se det relevante metodeark til VENTANA-detektionskit for at få yderligere oplysninger om immunhistokemiske farvningsprocedurer: Procedurens princip, Materiale og metoder, Prøvetagning og forberedelse til analyse, Metoder til kvalitetskontrol, Fejlfinding, Fortolkning af resultater og Begrænsninger.

NØDVENDIGE MATERIALER, SOM IKKE MEDFØLGER

Farvereagenser såsom VENTANA-detektionskits og hjælpekomponenter, herunder objektglas med negative og positive kontrolvæv, medfølger ikke.

Det er ikke alle produkter, der er nævnt i metodearket, som kan fås i alle geografiske områder. Indhent oplysninger hos den lokale supportrepræsentant.

Nedenstående reagenser og materialer kan være påkrævet ved farvning, men medfølger ikke:

1. Anbefalet kontrolvæv
2. Objektglas, positivt ladede

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. Generelt laboratorieudstyr

OPBEVARING OG STABILITET

Opveares ved 2–8 °C efter modtagelsen, og når de ikke anvendes. Må ikke nedfryses.

For at sikre korrekt reagenstilførsel og antistoffets stabilitet skal kapslen sættes på dispenseren igen efter hver brug, og dispenseren skal omgæende anbringes i køleskab i opret position.

Hver antistofdispenser er mærket med udløbsdato. Ved korrekt opbevaring er reagenset stabilt indtil den dato, der er angivet på etiketten. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.

PRÆPARATFORBEREDELSE

Rutinemæssigt behandlede FFPE-væv er egnede til brug med dette primære antistof, når det anvendes med VENTANA-detektionskits og BenchMark IHC/ISH-instrumenter. De følgende trin anbefales ved behandling af præparater.¹²

Læg præparatet i 10 % neutral buffer-formalin. Den anvendte mængde er 15 til 20 gange mængden af væv. I løbet af 24 timer trænger intet fiksativ trænger ind i mere end 2 til 3 mm fast væv eller 5 mm porøs væv. Et vævssnit på 3 mm eller mindre skal fikseres i mindst 4 timer og højst 8 timer. Fikseringen kan udføres ved stuetemperatur (15–25 °C).

Efter fiksering placeres præparatet i et vævsbehandlingsinstrument til klargøring natten over. Kort fortalt består denne behandling af dehydrering af præparatet med alkoholer efterfulgt af rensereagenser for at fjerne alkoholer og til sidst infiltration med paraffin.

Prøver er indlejret med paraffin i vævskassetter, og cirka 4 µm tykke snit skæres, centrerer og samles på objektglas. Objektglassene skal være af typen Superfrost Plus eller tilsvarende. Væv skal lufttørres ved at placere objektglassene ved omgivende temperatur natten over eller i en 60 °C varm ovn i 30 minutter.

Objektglassene skal farves omgæende, da skårne vævssnits antigenicitet muligvis mindskes over tid. Bed din lokale Roche-repræsentant om en kopi af »Recommended Slide Storage and Handling« for yderligere oplysninger.

Det anbefales, at der køres positive og negative kontroller samtidig med ukendte præparater.

ADVARSLER OG FORSİGTIGHEDSREGLER

1. Til in vitro diagnostisk (IVD) brug.
2. Kun til faglig anvendelse.
3. Brug ikke efter det angivne antal tests.
4. ProClin 300 er brugt som konserveringsmiddel i dette reagens. Det er klassificeret som lokalirriterende og kan forårsage overfølsomhed ved hudkontakt. Der skal tages rimelige forholdsregler ved håndtering. Undgå, at reagenset kommer i berøring med øjne, hud og slimhinder. Bær beskyttelsestøj og handsker.
5. Dette produkt indeholder 1 % eller mindre bovint serum, som anvendes til fremstilling af antistoffet.
6. Positivt ladede objektglas kan være modtagelige over for stressfaktorer i det omgivende miljø, hvilket kan medføre uhensigtsmæssig farvning. Bed din Roche-repræsentant om yderligere oplysninger om, hvordan denne type objektglas skal anvendes.
7. Materialer af human eller animalsk oprindelse skal håndteres som biologisk farligt materiale og bortskaffes i henhold til gældende forholdsregler. I tilfælde af eksponering skal de ansvarlige myndigheders sundhedsdirektiver følges.^{13,14}
8. Undgå, at reagenser kommer i kontakt med øjne og slimhinder. Vask med rigelige mængder vand, hvis reagenserne kommer i kontakt med følsomme områder.

9. Undgå mikrobiel kontamination af reagenserne, da det kan forårsage fejlbehæftede resultater.
10. For yderligere information om brugen af denne enhed henvises til BenchMark IHC/ISH-instrumentets brugervejledning og brugsanvisningerne til alle nødvendige komponenter, som findes på navifyportal.roche.com.
11. Indhent oplysninger hos lokale og/eller statslige myndigheder vedrørende den anbefalede metode til bortskaffelse.
12. Mærkning af produktsikkerhed følger primært EU's GHS-vejledning. Sikkerhedsdatablade er tilgængelige efter anmodning for faglige brugere.
13. For at rapportere mistanke om alvorlige hændelser i forbindelse med denne enhed, skal du kontakte den lokale Roche-repræsentant og den kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren har etableret sig.

Dette produkt indeholder komponenter klassificeret som følger i henhold til Forordning (EU) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Fareoplysninger.

Fare	Kode	Sætning
	H317	Kan forårsage allergisk hudreaktion.
	H412	Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
	P261	Undgå at indånde tåge eller dampe.
	P273	Undgå udledning til miljøet.
	P280	Bær beskyttelsestøj.
	P333 + P313	Ved hudirritation eller udslet: Søg læge.
	P362 + P364	Alt tilsudsat tøj tages af og vaskes inden genanvendelse.
	P501	Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.

Dette produkt indeholder CAS-nr. 55965-84-9, en reaktionsmasse af: 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

FARVNINGSPROCEDURE

VENTANA primære antistoffer er blevet udviklet til brug på et BenchMark IHC/ISH-instrument i kombination med VENTANA-detektionskits og tilbehør. Se Tab. 2 og Tab. 3 vedrørende anbefalede farvningsprotokoller.

Dette antistof er optimeret til specifikke inkubationstider, men brugeren skal validere resultater, der opnås med dette reagens.

Parametrene for de automatiserede procedurer kan vises, udskrives og redigeres i henhold til den procedure, der er beskrevet i instrumentets brugervejledning. Se det relevante metodeark til VENTANA-detektionskits for at få yderligere oplysninger om immunhistokemiske farvningsprocedurer.

For yderligere oplysninger om korrekt brug af denne enhed henvises til inline-dispenserens metodeark, som hører til P/N 790-4509 eller 790-4296.

Verifikation og validering af den anbefalede farvningsprotokol for hvert detektionskit demonstreres gennem designkontroltest og resultater af kliniske undersøgelser.

Ved enhver ændring af den anbefalede farvningsprocedure annulleres de præstationskarakteristika, der er angivet i dette metodeark. Brugeren skal validere enhver ændring af den anbefalede farvningsprocedure.

Tab. 2. Anbefalet farvningsprotokol for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof med *ultraView* Universal DAB Detection Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Proceduretype	Metode	
	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS
Afparaffinerings	Valgt	Valgt
Cell Conditioning (antigenafmaskning)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
Antistof (primært)	16 minutter, 37 °C	16 minutter, 36 °C
Kontrastfarve (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 minutter	Hematoxylin II, 4 minutter
Efterfølgende kontrastfarve	Bluings, 4 minutter	Bluings, 4 minutter

Tab. 3. Anbefalet farvningsprotokol for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof med *VIEW* DAB Detection Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Proceduretype	Metode	
	XT	ULTRA
Afparaffinerings	Valgt	Valgt
Cell Conditioning (Antigenafmaskning)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
Antistof (primært)	16 minutter, 37 °C	16 minutter, 36 °C
A/B-blokerings (biotinblokerings)	Nødvendigt	Nødvendigt
Kontrastfarve	Hematoxylin II, 4 minutter	Hematoxylin II, 4 minutter
Efterfølgende kontrastfarve	Bluings, 4 minutter	Bluings, 4 minutter

METODER TIL KVALITETSKONTROL

Positiv vævskontrol

Bedst mulig laboratoriepraksis skal omfatte et positivt kontrolsnit på samme objektglas som testvævet. Dette hjælper med at identificere fejl i forbindelse med påføringen af reagens på objektglasset. Væv med svag positiv farvning er bedst egnet til kvalitetskontrol.

Kendte positive vævskontroller må udelukkende benyttes til overvågning af reagensernes og instrumenternes funktion, og ikke som hjælp til at formulere en specifik diagnose for testprøver. Hvis de positive vævskontroller ikke udviser positiv farvning, skal resultaterne for testpræparaterne anses for ugyldige.

Der skal køres en positiv vævskontrol med hver udført farvningsprocedure. CAP anbefaler, at der skal være en positiv vævskontrol på patientens objektglas.⁹ Et eksempel på væv, der kan bruges som en positiv kontrol med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof, er et svagt positivt brystcarcinom. Celle- eller vævskomponenterne i positiv farvning (kernefarvning af tumorceller) bruges til at bekræfte, at CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet blev påført, og at instrumentet fungerede korrekt. Dette væv kan indeholde både positive og negative farvningskomponenter eller vævsbestanddele og kan benyttes både som positivt og negativt kontrolvæv. Kontrolvæv skal være nye obduktions-, biopsi- eller kirurgi- eller fikseret så hurtigt som muligt på en måde, der er identisk med testsnittene. Sådanne væv kan overvåge alle trin i proceduren, fra vævsklargøring til farvning. Brug af et vævssnit, der er fikseret eller behandlet på en anden måde end testpræparatet, kan bruges som kontrol for alle reagenser og metodetrik undtagen fiksering og vævsbehandling.

Et væv med svag positiv farvning er mere egnet end et med stærk positiv farvning til optimal kvalitetskontrol og til detektion af mindre niveauer af reagensnedbrydning. Ideelt set bør et brystcarcinomvæv, der vides at have svag, men positiv farvning, vælges for at

sikre, at systemet er følsomt over for små mængder reagensnedbrydning eller problemer med IHC-metoden.

Alternativt kan normalt humant proliferativt endometrium anvendes til en positiv kontrol. De positive farvningskomponenter er kernefarvning af kirtel- og strømligende muskelceller. Endometrie- eller endometriumvæv farver muligvis ikke svagt nok til at detektere små mængder reagensnedbrydning eller problemer med IHC-metoden.

Negativ vævskontrol

Brug en vævskontrol, der vides at være fikseret, behandlet og indstøbt på præcis samme måde som patientprøverne, med hver farvningskomponent for at verificere specificiteten af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof med henblik på detektion af PR og for at give en indikation af specifik baggrundsfarvning (falsk positiv farvning). De mange forskellige celletyper i de fleste vævssnit kan også anvendes af laboranten som intern negativ kontrol til at bekræfte CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffets ydeevnespecifikationer. For eksempel kan det samme væv (endometrium), der anvendes til den positive vævskontrol, anvendes som negativ vævskontrol. Komponenterne, der ikke farver (cytoplasma, cellemembran), skal vise fravær af specifik farvning i celler, der ikke forventes at farves, og give en indikation af specifik baggrundsfarvning. Den negative vævskontrol skal også bruges som en hjælp til fortolkning af resultater. De mange forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, kan ofte bruges som negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren. Hvis der opstår specifik farvning på de negative vævskontrolsteder, skal patientpræparaternes resultater anses som ugyldige.

Negativ reagenskontrol

Der skal køres en negativ reagenskontrol for hvert præparat som en hjælp til fortolkning af resultaterne. En negativ reagenskontrol anvendes i stedet for det primære antistof til at evaluere uspecifik farvning og muliggøre bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet. Dette giver en indikation af uspecifik baggrundsfarvning for hvert objektglas. Frem for med det primære antistof farves objektglasset med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, et oprenset ikke-immunt kanin-IgG, der ikke reagerer med humane præparater. Hvis der anvendes en alternativ negativ reagenskontrol, fortolkes til den samme fortynding som for det primære antistofantiserum med VENTANA Antibody Diluent. Cirka 0,2 % kalvefosterserum bevares i CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet. Tilsætning af 0,2 % kalvefosterserum i VENTANA Antibody Diluent er også egnet til anvendelse som en uspecifik negativ reagenskontrol. Inkubationstiden for den negative reagenskontrol skal være den samme som for det primære antistof.

Når der anvendes paneler med flere antistoffer på serielle snit, kan en negativ reagenskontrol på et objektglas fungere som en baggrunds kontrol for negativ eller uspecifik binding for andre antistoffer.

Analyseverifikation

Før den første anvendelse af dette antistof i en diagnostisk procedure, eller hvis der skiftes lotnummer, skal antistoffets specificitet verificeres ved farvning af et antal positive og negative væv med kendte præstationskarakteristika. Se metoderne til kvalitetskontrol, der tidligere er skitseret i dette afsnit af indlægssedlen, og kvalitetskontrollanbefalingerne fra College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist eller CLSI Approved Guideline eller begge dokumenter.^{16,17} Disse metoder til kvalitetskontrol skal gentages for hvert nyt antistof-lot, eller når der skiftes lotnummer på et af reagenserne i et matchet sæt eller foretages en ændring i analyseparametrene. Kvalitetskontrol kan ikke udføres meningsfuldt på et individuelt reagens i isolation, da de matchede reagenser, sammen med en defineret analyseprotokol, skal testes sammen, før et kit anvendes til diagnostiske formål. Væv, der er anført i sammendraget af de forventede resultater, er egnede til analyseverifikation.

Alle krav til kvalitetskontrol skal udføres i overensstemmelse med lokale, statslige og føderale regler eller akkrediteringskrav.

FORTOLKNING AF FARVNINGEN/FORVENTEDE RESULTATER

Farvningsproceduren får et farvet reaktionsprodukt til at udfældes på de antigensteder, der lokaliseres af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof. En kvalificeret patolog med erfaring i IHC-procedurer skal evaluere positive og negative kontroller og kvalificere det farvede produkt, før resultaterne fortolkes. Progesteronreceptorstatus bestemmes af procentdelen af farvede tumorceller. Et tilfælde blev anset som PR-positivt, hvis der var farvning af kernen i præcis eller mere end 1 % af tumorcellerne.⁹

Positiv vævskontrol

Den positive vævskontrol, der er farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof, bør undersøges først for at sikre, at alle reagenser fungerer korrekt. Tilstedeværelsen af et brunt (3,3'-diaminobenzidintetrachlorid, DAB) reaktionsprodukt i målcellernes kerner er tegn på positiv reaktivitet. Et eksempel på et væv, der kan anvendes som en positiv

kontrol, er et kendt svagt positivt brystcarcinom, f.eks. $\geq 1\%$. Kerner i tumorceller skal være positive. Det er bydende nødvendigt, at kun kernefarvning betragtes som positiv, for at en falsk positiv fortolkning kan undgås. Normalt humant endometrium kan også anvendes. I normalt endometrium ses PR-farvning i kernerne i endometriekirtlerne og stroma. Hvis de positive kontroller ikke fremviser passende positiv farvning, skal alle resultater med testpræparaterne anses for ugyldige.

Negativ vævskontrol

Den negative vævskontrol skal undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere den specifikke mærkning af målantigenet med det primære antistof. Fraværet af specifik farvning i den negative vævskontrol bekræfter manglen på antistofkrydsreaktivitet over for celler eller cellebestanddele. Det brystkarcinom, der anvendes som en positiv kontrol, kan også bruges som et negativt kontrolvæv. Visse stromale elementer, der vides at være PR-negative, såsom endotelceller, bør ikke vise nogen kernefarvning. Hvis der opstår specifik farvning på den negative vævskontrol, skal patientpræparatets resultater anses som ugyldige.

Uspecifik farvning vil, hvis den er til stede, have et diffust udseende. Sporadisk let farvning af bindevæv kan også observeres i vævssnit, der er formalinfikseret for kraftigt. Intakte celler bør anvendes til fortolkning af farvningsresultater, da nekrotiske eller degenererede celler ofte farves uspecifikt.¹⁸

Patientvæv

Patientpræparater, der er farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof, skal undersøges sidst. Positiv farvningsintensitet bør vurderes inden for rammerne af uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. PR kan detekteres blandt andre neoplasmer, såsom kræft i æggestokken og endometrium.¹⁹ Når ethvert immunhistokemisk resultat fortolkes, bør morfologien for hver vævsprøve også undersøges ved brug af et hæmatoxylin- og eosinfarvet snit. Patientens morfologiske fund og relevante kliniske data skal fortolkes af en kvalificeret patolog. Se Resumé og forklaring, Begrænsninger og Sammenlægning af forventede resultater for at få specifikke oplysninger om immunreaktivitet.

BEGRÆNSNINGER

Generelle begrænsninger

- IHC er en diagnosticeringsproces i flere trin, der kræver specialuddannelse i udvælgelsen af de passende reagenser og væv, fiksering, behandling, klargøring af immunhistokemiske objektglas og fortolkning af farvningsresultaterne.
- Vævsfarvning er afhængig af håndtering og behandling af vævet før farvning. Forkert fiksering, nedfrysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, udsækning eller kontamination med andet væv eller væsker kan fremkalde artefakter, antistofbinding eller falsk negative resultater. Uoverensstemmende resultater kan være en konsekvens af forskelle i fikserings- og indstøbningsmetoder eller naturlige uregelmæssigheder i selve vævet.
- For kraftig eller ufuldstændig modfarvning kan bringe korrekt fortolkning af resultater i fare.
- Den kliniske fortolkning af en positiv farvning, eller dens fravær, skal evalueres på baggrund af anamnese, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske fortolkning af enhver farvning, eller dens fravær, skal suppleres af morfologiske undersøgelser med korrekte kontroller samt andre diagnostiske tests. Dette antistof er beregnet til at blive anvendt i et panel af antistoffer. Det er en kvalificeret patologs ansvar at være fortrolig med antistoffer, reagenser og metoder, der anvendes til fremstilling af det farvede præparat. Farvning skal udføres i et certificeret, licenseret laboratorium under tilsyn af en patolog, der er ansvarlig for at gennemgå de farvede objektglas og sikre tilstrækkeligheden af positive og negative kontroller.
- Ventana leverer antistoffer og reagenser ved optimal fortynding til brug, når de medfølgende instruktioner følges. Enhver afvigelse fra anbefalede testprocedurer kan ugyldiggøre forventede resultater. Passende kontroller skal anvendes og dokumenteres. Brugere, der afviger fra anbefalede testprocedurer, vil være ansvarlige for fortolkningen af patientresultater.
- Dette produkt er ikke beregnet til brug i flowcytometri, da præstationskarakteristika ikke er fastlagt.
- Reagenserne kan fremvise uventede reaktioner i tidligere utestet væv. Muligheden for uventede reaktioner selv i testede vævsgrupper kan ikke helt udelukkes på grund af den biologiske variabilitet i antigenekspressionen i neoplasmer eller andre patologiske væv.²⁰ Kontakt din lokale supportrepræsentant med dokumenterede uventede reaktioner.

- Væv fra personer inficeret med hepatitis B-virus og indeholdende hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg) kan udvise uspecifik farvning med peberrodsperoxidase.²¹
- Når det anvendes i blokeringstrin, kan normal sera fra samme dyrekilde som de sekundære antisera forårsage falsk negative eller falsk positive resultater på grund af autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
- Falsk positive resultater kan ses på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også være forårsaget af pseudoperoxidaseaktivitet (erythrocytter), endogen peroxidaseaktivitet (cytochrom C) eller endogent biotin (eksempel: lever, hjerne, bryst, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarvning.¹⁸
- Som ved enhver IHC-test betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev detekteret, og ikke, at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller væv.

Specifikke begrænsninger

- Antistoffet i kombination med VENTANA-detektionskits og tilbehør detekterer antigen, der overlever rutinemæssig formalinfiksering, vævsbehandling og -udsækning. Brugere, der afviger fra anbefalede testprocedurer, er ansvarlige for fortolkning og validering af patientresultater.
- Et negativt CONFIRM anti-PR (1E2)-antistofresultat udelukker ikke tilstedeværelsen af PR. Negative reaktioner i brystkarcinomer kan skyldes tab af eller markant fald i antigenekspression. Derfor anbefales det, at dette antistof anvendes i et panel af antistoffer inklusive østrogenreceptor.
- Positiv kernefarvning med antistofklonet 1E2 er observeret i tonsilvæv.²² Tonsil er ikke en indikation for brug med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof. Hvis tonsilvæv bruges som et negativ vævskontrol, skal det derfor screenes for at sikre, at der er valgt en negativ farvning.

Alle analyser er ikke nødvendigvis registreret på alle instrumenter. Kontakt den lokale Roche-repræsentant for yderligere oplysninger.

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

ANALYTISK YDEEVNE

Farvningsprøver for sensitivitet, specificitet og præcision blev udført, og resultaterne er anført nedenfor.

Sensitivitet og specificitet

Sensitivitet og specificitet for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof blev fastlagt ved farvning af forskellige tilfælde med normale humane væv. Resultaterne er anført i Tab. 4 og Tab. 5. Positiv farvning var kernefarvning i alle undersøgte væv, hvor et enkelt tilfælde fra ovarie viste uventet negativ farvning. Positiv farvning af thyroideavæv blev observeret, men dette er blevet identificeret tidligere.²³ Positiv kernefarvning med antistofklon 1E2 er blevet observeret i tonsilvæv.²²

Tab. 4. Sensitivitet/specificitet for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof blev fastlagt ved undersøgelse af normale FFPE-væv.

Væv	Antal positive tilfælde/tilfælde i alt	Væv	Antal positive tilfælde/tilfælde i alt
Cerebrum	0/5	Øsofagus	0/3
Cerebellum	0/3	Mavesæk	0/3
Binyre	0/3	Tyndtarm	0/3
Ovarie	2/3	Colon	0/3
Pancreas	3/3	Lever	0/3
Glandula parathyroidea	0/4	Spytkirtel	0/3
Glandula pituitaria	3/3	Nyre	0/3
Testis	0/3	Prostata	1/3
Thyroidea	0/5	Blære	0/5
Bryst ^a	4/4	Endometrium	1/3
Milt	1/3	Cervix	8/8

Væv	Antal positive tilfælde/tilfælde i alt	Væv	Antal positive tilfælde/tilfælde i alt
Tonsil	1/3	Skeletmuskulatur	0/5
Thymus	0/3	Hud	0/3
Knoglemarv	0/3	Nerve	0/3
Lunge	0/3	Mesothelium	0/3
Hjerte	0/3		

^a Vævet omfatter fibrofatigt væv.

Immunreaktivitet for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof blev fastlagt ved farvning af forskellige tilfælde med neoplastiske humane væv. Tilfælde blev anset som PR-positive, hvis der var farvning af kernen i mindst $\geq 1\%$ af de invasive tumorceller.

Tab. 5. Sensitivitet/specifitet for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof blev fastlagt ved undersøgelse af forskellige FFPE, neoplastiske væv.

Patologi	Antal positive tilfælde/tilfælde i alt
Glioblastom (cerebrum)	0/1
Meningiom (cerebrum)	0/1
Ependymom (cerebrum)	0/1
Oligodendrogliom (cerebellum)	0/1
Serøst adenokarcinom (ovarie)	1/1
Mucinøst adenokarcinom (ovarie)	0/1
Neuroendokrint neoplasme (pancreas)	1/1
Adenokarcinom (pancreas)	0/1
Seminom (testis)	0/1
Embryonalt karcinom (testis)	0/1
Medullært karcinom (thyroidea)	1/1
Papillært karcinom (thyroidea)	0/1
Duktalt karcinom in situ (bryst)	1/1
Invasivt duktalt karcinom (bryst)	0/1
B-cellelymfom, ikke specificeret yderligere (milt)	0/1
Småcellet karcinom (lunge)	0/1
Pladecellekarcinom (lunge)	0/1
Adenokarcinom (lunge)	0/1
Pladecellekarcinom (øsofagus)	0/1
Adenokarcinom (øsofagus)	0/1
Mucinøst adenokarcinom (mavesæk)	0/1
Adenokarcinom (tarm)	0/1
Adenokarcinom (colon)	0/1
Malign blandet mesenkymal neoplasme (colon)	0/1
Adenokarcinom (rektum)	0/1
Malign blandet mesenkymal neoplasme (rektum)	0/1
Melanom (rektum)	0/1
Hepatocellulært karcinom (lever)	0/1
Hepatoblastom (lever)	0/1
Clear cell-karcinom (nyre)	0/1

Patologi	Antal positive tilfælde/tilfælde i alt
Adenokarcinom (prostata)	1/1
Urotelkarcinom (prostatisk urethra)	1/1
Leiomyom (uterus)	1/1
Adenokarcinom (uterus)	1/2
Clear cell-karcinom (uterus)	0/1
Pladecellekarcinom (cervix)	1/1
Embryonalt rhabdomyosarkom (tværstribet muskulatur)	0/1
Pladecellekarcinom (tværstribet muskulatur)	0/1
Basalcellekarcinom (hud)	0/1
Neurofibrom (mediastinum)	1/1
Neuroblastom (retroperitoneum)	1/1
Mesothelium (peritoneum)	0/1
Hodgkin lymfom (lymfeknude)	0/1
Lymfom, ikke specificeret yderligere (lymfeknude)	0/2
B-cellelymfom, ikke specificeret yderligere (lymfeknude)	0/1
Urotelkarcinom (blære)	0/1

Sensitiviteten afhænger af bevarelsen af antigenet. Enhver forkert håndtering af væv under fiksering, udskæring, indstøbning eller opbevaring, der ændrer antigeniciteten, svækker PR-detektion med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof og kan generere falske negative resultater.

BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumentpræcision

Væv fra seks individuelle tilfælde blev farvet som en del af reproducerbarhedstesten. Af de seks væv havde to høj PR-ekspression, to lav PR-ekspression, og to var PR-negative baseret på en cut-off på $< 1\%$ tumorceller, der farvede for negativ, 1–10 % for lav og $> 10\%$ for høj ekspression.

I forbindelse med test af reproducerbarhed inden for samme kørsel blev 9 objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof, og ét objektglas fra hvert tilfælde blev farvet med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistof på et BenchMark XT-instrument. Den samme testkonfiguration blev også udført på et BenchMark ULTRA-instrument. Reproducerbarhed inden for samme kørsel af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på både BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter var 100 % i overensstemmelse med alle positive væv i seks tilfælde.

Med henblik på test af dag til dag præcision blev fire objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof, og ét objektglas fra hvert tilfælde blev farvet med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistof i fem separate ikke-fortløbende kørsler foretaget i løbet af en 20-dages periode på samme BenchMark XT-instrument. Den samme testkonfiguration blev også udført på et BenchMark ULTRA-instrument. Dag til dag præcisionen af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på både BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter var 100 % i overensstemmelse med alle positive væv i seks tilfælde.

Med henblik på test af den analytiske robusthed af BenchMark XT fra instrument til instrument blev 4 objektglas fra seks tilfælde farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på tre separate BenchMark XT-instrumenter. Derudover blev et enkelt objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistof. Mellemprecisionen af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof fra instrument til instrument på tre BenchMark XT-instrumenter var 100 % i overensstemmelse i alle seks tilfælde.

Med henblik på test af mellemprecisionen af BenchMark ULTRA-metoden fra instrument til instrument blev 4 objektglas fra seks tilfælde farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på tre separate BenchMark ULTRA-instrumenter. Derudover blev et enkelt objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistof. Mellemprecisionen af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof fra instrument til instrument på tre BenchMark ULTRA-instrumenter var 100 % i overensstemmelse i alle seks tilfælde.

Alle reproducerbarhedstest opfyldte godkendelseskriterierne for bestået test.

BenchMark ULTRA PLUS-instrumentpræcision

Væv fra ni individuelle tilfælde blev farvet som en del af præcisionstestningen. Af de ni væv havde tre høj PR-ekspression, tre havde lav PR-ekspression, og tre var PR-negative baseret på en cut-off på < 1 % tumorceller, der farvede for negativ, 1–10 % for lav og > 10 % for høj ekspression.

I forbindelse med test af reproducerbarhed inden for samme kørsel blev fem objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof, og ét objektglas fra hvert tilfælde blev farvet med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistof på et BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Reproducerbarhed inden for samme kørsel af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet var 100 % overensstemmende. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-farvede objektglas var acceptable for signal og baggrund.

Med henblik på test af dag til dag præcision blev to objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof, og ét objektglas fra hvert tilfælde blev farvet med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistof i fem separate ikke-fortløbende kørsler foretaget i løbet af en 20-dages periode på samme BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Mellemprecisionen fra dag til dag for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet var 97.8 % overensstemmende. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-farvede objektglas var acceptable for signal og baggrund.

Med henblik på test af mellemprecisionen BenchMark ULTRA PLUS fra instrument til instrument blev to objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på tre separate BenchMark ULTRA PLUS-instrumenter. Derudover blev et enkelt objektglas fra hvert tilfælde farvet med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antistof. Mellemprecisionen fra instrument til instrument for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet var 98.1 % overensstemmende.

Reproducerbarhed mellem laboratorier

Der blev foretaget en undersøgelse af reproducerbarhed mellem laboratorier for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof ved brug af 14 objektglas med brystkræft (8 positive, 2 lavt positive, 4 negative), som blev kørt på 3 forskellige BenchMark XT-instrumenter og 3 forskellige BenchMark ULTRA-instrumenter, med *VIEW* DAB-detektion og *ultraView* Universal DAB Detection Kit på 5 ikke-fortløbende dage i løbet af en periode på mindst 20 dage på 3 eksterne laboratorier. Prøverne blev randomiseret og evalueret af i alt 6 patologer (2 patologer pr. center) for procentdel af farvede tumorceller. Et tilfælde blev anset som PR-positivt, hvis der var farvning af kernen i mindst 1 % af de invasive tumorceller.⁹

Med hensyn til præcision fra sted til sted var raterne for gennemsnitlig positiv overensstemmelse (APA) og gennemsnitlig negativ overensstemmelse (ANA) for klinisk vurdering med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof henholdsvis 99.7 % og 99.1 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *VIEW*-detektion, 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*-detektion and og henholdsvis 97.4 % og 91.3 % på BenchMark XT-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Med hensyn til præcision fra dag til dag var raterne (APA) og (ANA) for klinisk vurdering med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof henholdsvis 99.7 % og 99.1 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *VIEW*-detektion, 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*-detektion and og henholdsvis 97.0 % og 90.8 % på BenchMark XT-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Med hensyn til præcision inden for samme læser var raterne (APA) og (ANA) for klinisk vurdering med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof henholdsvis 99.7 % og 99.1 % på BenchMark ULTRA-instrumentet med *VIEW*-detektion, 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*-detektion and og henholdsvis 97.0 % og 90.8 % på BenchMark XT-instrumentet med *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Med hensyn til præcision mellem platforme på tværs af BenchMark ULTRA- og BenchMark XT-instrumenter var raterne APA og ANA henholdsvis 99.5 % og 98.7 % for *VIEW*-detektion og henholdsvis 98.0 % og 93.9 % for *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Med hensyn til præcision inden for samme var raterne 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 af *VIEW* DAB Detection Kit og *ultraView* Universal DAB Detection Kit ved brug af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof.

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof blev anvendt til at udføre sammenligningstest af detektion på to forskellige instrumenter (BenchMark XT og BenchMark ULTRA instruments) ved brug af *VIEW* DAB Detection Kit og *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Ethundredeoghalvfems vævstilfælde blev brugt som en del af testen. Af disse tilfælde er cirka halvdelen positive og halvdelen negative som en funktion af procentdelen af farvede tumorceller. De farvede objektglas blev vurderet af patologer, der bestemte procentdelen af farvede tumorceller. Et tilfælde blev anset som PR-positivt, hvis der var farvning af kernen i mindst 1 % af tumorcellerne.

Raterne for morfologisk acceptabilitet og baggrundsacceptabilitet var 100 % for begge detektionskits og instrumenter med undtagelse af *ultraView* Universal DAB Detection Kit på BenchMark ULTRA-instrumentet, som havde en baggrundsacceptabilitetsrate på 99.5 %. Direkte sammenligninger med hensyn til positiv og negativ klinisk vurdering mellem detektionskits for hver platform præsenteres i Tab. 6 for BenchMark ULTRA-instrumentet og Tab. 7 for BenchMark XT-instrumentet.

Tab. 6. Klinisk vurdering for *ultraView* Universal DAB Detection Kit versus *VIEW* DAB Detection Kit ved brug af BenchMark ULTRA-instrumentet.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW</i> DAB Detection Kit		
	Positive	Negativ	I alt
Positive	94	11	105
Negativ	2	86	88
I alt	96	97	193
	n/n	% (95 % CI)	
Positiv procentoverensstemmelse	94/96	97.9 (92.7–99.4)	
Negativ procentoverensstemmelse	86/97	88.7 (80.8–93.5)	
Samlet procentvis overensstemmelse	180/193	93.3 (88.8–96.0)	

Tab. 7. Klinisk vurdering for *ultraView* Universal DAB Detection Kit versus *VIEW* DAB Detection Kit ved brug af BenchMark XT-instrumentet.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW</i> DAB Detection Kit		
	Positive	Negativ	I alt
Positive	91	14	105
Negativ	2	86	88
I alt	93	100	193
	n/n	% (95 % CI)	
Positiv procentoverensstemmelse	91/93	97.8 (92.5–99.4)	
Negativ procentoverensstemmelse	86/100	86.0 (77.9–91.5)	
Samlet procentvis overensstemmelse	177/193	91.7 (87.0–94.8)	

Overensstemmelsen i den kliniske vurdering mellem detektionskits for begge instrumenter var over 90 % med 93.3 % (n = 193) og 91.7 % (n = 193) for henholdsvis BenchMark ULTRA- og BenchMark XT-instrumentet. *ultraView* Universal DAB Detection Kit sammenlignet med *VIEW* DAB Detection Kit havde overensstemmelsesrater for farvningscore på henholdsvis 90.2 % (n = 193) og 85.5 % (n = 193).

Sammenligning af BenchMark ULTRA-instrumentet versus BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet

En undersøgelse blev udført for at sammenligne farvningspræstationen for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet versus BenchMark ULTRA-instrumentet. Ethundredeogtredive (134) tilfælde med væv af brystcarcinom

(61 PR-positive, 61 PR-negative og 12 PR-positive grænsetilfælde), som repræsenterer analysens kliniske interval. De farvede objektglas blev vurderet af patologer, der bestemte procentdelen af farvede tumorceller. Et tilfælde blev anset som PR-positivt, hvis der var farvning af kernen i mindst $\geq 1\%$ af de invasive tumorceller.⁹ Den direkte sammenligning med hensyn til positiv og negativ PR-status mellem BenchMark ULTRA-instrumentet og BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet præsenteres i Tab. 8.

Tab. 8. CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet og CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på BenchMark ULTRA-instrumentet (med udelukkelse af positive grænsetilfælde).

BenchMark ULTRA PLUS-instrument	BenchMark ULTRA-instrument		
	Positive	Negativ	I alt
Positiv	79	2	81
Negativ	6	23	29
I alt	85	25	110
	n/n	% (95 % CI)	
Positiv procentoverensstemmelse	79/85	92.9 (85.4–96.7)	
Negativ procentoverensstemmelse	23/25	92.0 (75.0–97.8)	
Samlet procentvis overensstemmelse	102/110	92.7 (86.3–96.3)	

De morfologiske acceptkriterier for alle objektglas, der blev farvet i dette forsøg, var 100.0 % (95 % C.I. 97.2 %–100.0 %) for BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet. Baggrundsacceptkriterierne var 100.0 % (95 % C.I. 97.2 %–100.0 %) for BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet.

KLINISK PRÆSTATION

Sammenligning af CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof med FLEX anti-PR (PgR 636).

En randomiseret multi-reader-undersøgelse med flere forsøgscentre blev udført for at sammenligne farvningspræstationen for CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof på BenchMark ULTRA-instrumentet og på BenchMark XT-instrumentet med det 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-instrumenter blev endogent biotin blokeret ved brug af VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit. Antistoffet blev detekteret med N/VIEW DAB Detection Kit. På Dako-plattformen blev antistoffet detekteret med EnVision Flex, High pH-detektion. Cirka 120 negative og 216 positive tilfælde af brystkræft, der repræsenterer analysens kliniske interval, blev tilfældigt tildelt til tre undersøgelsessteder, således at hvert sted modtog lige mange tilfælde, og hvert sted modtog tilfælde, der repræsenterede hver klinisk vurderingskategori. På hvert center farvedes de tildelte tilfælde med CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet på et BenchMark ULTRA-instrument, CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffet på et BenchMark XT-instrument og med FLEX anti-PR (PgR 636) på Dako Autostainer Plus. De farvede objektglas blev vurderet af patologer, der bestemte procentdelen af farvede tumorceller. Et tilfælde blev anset som PR-positivt, hvis der var farvning af kernen i mindst $\geq 1\%$ af de invasive tumorceller.⁹

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

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positive	Negativ	I alt
Positiv:	200	7	207
Negativ:	9	104	113
I alt:	209	111	320
	n/n	% (95 % CI)	
Positiv procentoverensstemmelse	200/209	95.7 (92.0–97.7)	

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positive	Negativ	I alt
Negativ procentoverensstemmelse	104/111	93.7 (87.6–96.9)	
Samlet procentvis overensstemmelse	304/320	95.0 (92.0–96.9)	

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

CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positive	Negativ	I alt
Positiv:	186	9	195
Negativ:	18	100	118
I alt:	204	109	313
	n/n	% (95 % CI)	
Positiv procentoverensstemmelse	186/204	91.2 (86.5–94.3)	
Negativ procentoverensstemmelse	100/109	91.7 (85.0–95.6)	
Samlet procentvis overensstemmelse	286/313	91.4 (87.7–94.0)	

Med hensyn til CONFIRM anti-PR (1E2)-antistoffarvning på BenchMark ULTRA- og BenchMark XT-instrumenterne sammenlignet med FLEX anti-PR (PgR 636) på Dako Autostainer Plus var de positive, negative og samlede overensstemmelsesrater (poolet fra alle undersøgelsescentre) alle højere end 90 %.

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

BenchMark ULTRA-instrument	BenchMark XT-instrument		
	Positive	Negativ	I alt
Positiv:	184	12	196
Negativ:	6	105	111
I alt:	190	117	307
	n/n	% (95 % CI)	
Positiv procentoverensstemmelse	184/190	96.8 (93.3–98.5)	
Negativ procentoverensstemmelse	105/117	89.7 (82.9–94.0)	
Samlet procentvis overensstemmelse	289/307	94.4 (90.9–96.3)	

Med hensyn til CONFIRM anti-PR (1E2)-antistof-farvning på BenchMark ULTRA-instrumentet sammenlignet med BenchMark XT-instrumentet var de positive, negative og samlede overensstemmelsesrater alle højere end 89 %.

De morfologiske acceptkriterier for alle objektglas, der blev farvet under dette forsøg 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. Raterne for baggrundsacceptabilitet 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.

FEJLFINDING

- Hvis den positive kontrol udviser svagere farvning end forventet, skal du kontrollere de andre positive kontroller, der blev kørt samtidig, for at afgøre, om det skyldes det primære antistof eller et af de fælles sekundære reagenser.

- Hvis den positive kontrol er negativ, skal du kontrollere, om objektglasset har den rigtige stregkodemærkning. Hvis objektglasset er mærket korrekt, skal du kontrollere de andre positive kontroller, der blev kørt samtidig, for at afgøre, om det skyldes det primære antistof eller et af de fælles sekundære reagenser. Vævene kan være forkert indsamlet, fikseret eller afparaffineret. Følg korrekte procedure for indsamling, opbevaring og fiksering.
- Hvis der opstår for kraftig baggrundsfarvning, kan der være høje niveauer af endogent biotin til stede. Der skal inkluderes et biotinblokeringsstrin.
- Hvis al paraffin ikke er fjernet, gentages afparaffineringsproceduren.
- Hvis specifik antistoffarvning er for intens, skal du gentage kørslen med den primære antistofinkubationstid forkortet med 4 minutters intervaller for at opnå den ønskede farvningsintensitet.
- Hvis vævssnit vaskes af objektglasset, skal du kontrollere objektglassene for at sikre, at de er positivt ladede.
- For afhjælpning henvises til afsnittet Fremgangsmåde trin for trin i instrumentets brugervejledning, eller du kan kontakte din lokale supportrepræsentant.

REFERENCER

- 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.
- 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.
- 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.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology: A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Occupational Safety and Health Standard: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- 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.
- Roche PC, His ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2010.
- 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.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.
- Press MF, Greene GL. Localization of progesterone receptor with monoclonal antibodies to the human progesterone receptor. Endocrinology. 1988;122(3):1165-1175.

- Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
- 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.
- Guadagno E, De Rosa G, Nappi O. A National Quality Assurance Program for Breast Immunohistochemistry: An Italian Perspective. Pathologica. 2018;110(2):83-91.
- Money SR, Muss W, Thelmo WL, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterone receptors in human thyroid. Surgery. 1989;106(6):975-8.

BEMÆRK: Der anvendes altid et punktum i dette dokument som decimaltegn til markering af grænsen mellem det hele tal og de efterfølgende decimaler. Der anvendes ikke tusindtalsseparatorer.

Sammenfatningen af sikkerhed og ydeevne kan findes her:

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

Symboler

Ventana bruger følgende symboler og tegn ud over dem, der er anført i ISO 15223-1-standard (for USA: Se elabdoc.roche.com/symbols for yderligere oplysninger).



Globalt vareidentifikationsnummer

Rx only

For USA: Forsigtig: Ifølge amerikansk føderal lovgivning må dette udstyr kun sælges af eller efter ordination fra en læge.

REVISIONSHISTORIK

Rev	Opdateringer
H	Rettelse af henvisning til tabel 8. Opdatering af den aktuelle skabelon.

OPHAVSRET

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM og ULTRAVIEW er varemærker tilhørende Roche. Alle andre produktnavne og varemærker tilhører deres respektive ejere.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTOPLYSNINGER



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

