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

REF 790-2223 Σ 50

05277990001

REF 790-4296 Σ 250

05278392001

IVD

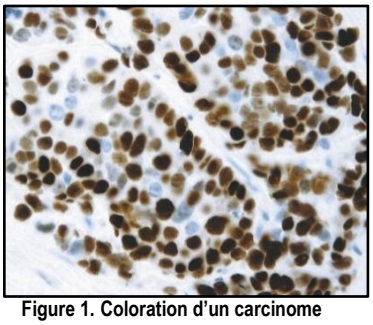

**Figure 1. Coloration d'un carcinome canalaire du sein à l'aide de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2).**

## UTILISATION PREVUE

Le CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody est destiné à être utilisé en laboratoire pour la détection qualitative d'un antigène du récepteur de la progestérone (PR) dans des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine sur un automate de coloration VENTANA avec les kits de détection et les réactifs auxiliaires VENTANA. Le CONFIRM anti-PR (1E2) est dirigé contre un épitope présent sur la protéine du récepteur de la progestérone humaine située dans le noyau des cellules normales et néoplasiques PR positives. Le CONFIRM anti-PR (1E2) est indiqué pour faciliter la prise en charge, le pronostic et la prédiction du résultat du traitement endocrinien du carcinome du sein.

Ce produit doit être interprété par un anatomopathologiste qualifié, en complément d'examens histologiques, d'informations cliniques pertinentes et de contrôles adaptés.

Utilisation uniquement sur ordonnance.

Cet anticorps est conçu pour une utilisation en diagnostic in vitro (IVD).

## RESUME ET EXPLICATION

Le CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (anticorps CONFIRM anti-PR [1E2]) est un anticorps monoclonal de lapin qui reconnaît les isoformes A et B du récepteur de la progestérone (PR) humain. L'immunogène a été développé à partir d'un peptide synthétique identifié comme une zone de haute antigénicité potentielle commune aux formes A et B du récepteur de la progestérone. Le peptide a été synthétisé et lié par une liaison covalente à l'hémocyanine de patelle pour renforcer son antigénicité. Il a été montré que l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) réagit avec des protéines de 60, 87 et 110 kD de cellules T47D en western blot. Les tailles de ces protéines sont conformes aux poids moléculaires prédits des formes A, B et C du récepteur de la progestérone.[1]

Le PR est un récepteur hormonal nucléaire codé par un seul gène (PGR).[1,2] L'activité du PR est régulée par le récepteur des œstrogènes (ER), un récepteur hormonal nucléaire étroitement apparenté. Les activités coordonnées de l'ER et du PR contrôlent le développement normal des glandes mammaires et sont indispensables pour la différenciation et la prolifération de l'épithélium mammaire adulte.[1,2,3]

Le cancer du sein est la principale cause de décès par cancer chez les femmes.[4] Le diagnostic et le traitement de la maladie reposent sur une détection précoce associée à une stratégie fiable de stratification des patientes vers le traitement approprié sur la base de facteurs pronostiques et prédictifs.[5,6] Le bilan diagnostique établi du cancer du sein est une combinaison d'examen physique, d'imagerie et d'évaluation pathologique.[5]

L'ER est l'un des marqueurs tumoraux paradigmatiques pour la prise en charge des patientes atteintes d'un cancer du sein. Les directives cliniques et les recommandations en matière de meilleures pratiques stipulent que le statut ER devrait être évalué dans tous les cas de cancer du sein invasif primaire afin d'identifier les patientes les plus susceptibles de répondre aux formes de traitement endocrinien.[5,6] Certains modulateurs du récepteur des œstrogènes bloquent la croissance des cancers dépendant des œstrogènes en atténuant l'hyperactivité de l'ER et sont utilisés comme traitement endocrinien chez les patientes surexprimant le récepteur.[6,7]

En pratique, près de la moitié des patientes positives à l'ER ne répondent pas au traitement endocrinien; un phénomène lié à la transformation maligne du récepteur dans les lésions cancéreuses.[8] La surexpression de PR peut être utilisée pour caractériser davantage la tumeur mammaire et prédire la réponse thérapeutique en agissant comme un rapporteur pour évaluer l'état fonctionnel de l'ER.[8,9] En 1975, l'hypothèse a été émise que la surexpression de PR pouvait être un marqueur prédictif de la réponse à un traitement endocrinien.[8] Des études ultérieures ont confirmé la valeur prédictive et pronostique de PR.[10,11] Un niveau plus élevé d'expression de PR est un indicateur d'une meilleure réponse au traitement endocrinien.[10]

La détection de PR est un élément fondamental de la prise en charge des patientes atteintes d'un carcinome invasif du sein.[5,6,9] Les lignes directrices et les recommandations de bonnes pratiques soulignent que l'immunohistochimie (IHC) est la méthode privilégiée pour détecter PR dans le cancer du sein.[9] Par conséquent, la détection par IHC de PR avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) peut être utilisée pour faciliter la prise en charge, le pronostic et la prédiction de l'issue de la thérapie du carcinome mammaire.

## PRINCIPE DE LA PROCEDURE

L'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) se lie au PR dans les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). L'anticorps spécifique peut être localisé avec une préparation d'anticorps secondaires conjugués à la biotine reconnaissant les immunoglobulines de lapin et un conjugué streptavidine-peroxydase de raifort (HRP) (*i*VIEW DAB Detection Kit) ou un conjugué anticorps secondaire-HRP (*ultra*View Universal DAB Detection Kit). Le complexe anticorps-enzyme spécifique est ensuite visualisé à l'aide d'un précipité du produit de réaction de l'enzyme.

Les cas cliniques doivent être évalués à la lumière des performances des contrôles appropriés. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) recommande l'inclusion d'un tissu de contrôle positif fixé et préparé de la même manière que l'échantillon de la patiente (du tissu d'utérus ou de carcinome du sein faiblement positif, par exemple). En plus de la coloration avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2), une seconde lame doit être colorée avec le CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Pour que le test soit considéré valide, le tissu de contrôle positif doit présenter une coloration nucléaire dans les cellules tumorales ou dans les glandes et le stroma utérins. Ces composants doivent être négatifs lorsque la procédure de coloration est réalisée avec le CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Il est de plus recommandé d'inclure une lame de tissu de contrôle négatif (du tissu de carcinome du sein PR négatif, par exemple) à chaque série d'échantillons traités et colorés sur l'appareil BenchMark IHC/ISH. Ce tissu de contrôle négatif doit être coloré à l'aide de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) afin de s'assurer que le démasquage antigénique et les autres procédures de prétraitement n'ont pas entraîné de faux positifs à la coloration.

## MATERIEL FOURNI

L'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) (réf. 790-2223) contient suffisamment de réactif pour 50 tests.

Un distributeur de 5 mL d'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) contient environ 5 µg d'anticorps monoclonal de lapin dirigé contre un antigène du PR humain.

L'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) (réf. 790-4296) contient suffisamment de réactif pour 250 tests.

Un distributeur de 25 mL d'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) contient environ 25 µg d'anticorps monoclonal de lapin dirigé contre un antigène du PR humain.

L'anticorps est dilué dans un tampon Tris-HCl renfermant une protéine de transport et 0.1 % de ProClin 300, un conservateur. Il contient des traces (~ 0.2 %) de sérum de veau fœtal d'origine américaine provenant de la solution mère.

La concentration en anticorps spécifique est d'environ 1 µg/mL. Ce produit ne présente aucune réactivité non spécifique connue de l'anticorps.

L'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) est un anticorps monoclonal de lapin produit sous forme de surnageant de culture cellulaire.

Se reporter à la fiche technique du kit de détection VENTANA approprié pour obtenir une description détaillée des éléments suivants : principe de la procédure, matériel et méthodes, prélèvement et préparation des échantillons pour l'analyse, procédures de contrôle qualité, résolution des problèmes, interprétation des résultats et limites.

## MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Les réactifs de coloration tels que les kits de détection et les composants accessoires VENTANA, y compris les lames de tissu de contrôle négatif et positif, ne sont pas fournis.

Il est possible que certains produits indiqués dans la fiche technique ne soient pas disponibles dans certains pays. Contacter un représentant du service client local.

Les réactifs et le matériel suivants peuvent être nécessaires pour la coloration, mais ne sont pas fournis :

1. Tissus de contrôle recommandés
2. Lames de microscope chargées positivement
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (réf. 760-1029 / 05266238001)
4. iView DAB Detection Kit (réf. 760-091 / 05266157001)
5. Endogenous Biotin Blocking Kit (réf. 760-050 / 05266092001)
6. *ultra*View Universal DAB Detection Kit (réf. 760-500 / 05269806001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (réf. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (réf. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (réf. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (réf. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning 1 (CC1) (réf. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (réf. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (réf. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (réf. 760-2037 / 05266769001)
15. Appareil BenchMark IHC/ISH
16. Matériel courant de laboratoire

## CONSERVATION ET STABILITE

Conserver le produit entre 2 et 8 °C dès réception et lorsqu'il n'est pas utilisé. Ne pas congeler.

Pour assurer une distribution correcte du réactif et la stabilité de l'anticorps, remettre le capuchon sur le distributeur après chaque utilisation et ranger immédiatement celui-ci en position verticale dans le réfrigérateur.

Chaque distributeur d'anticorps porte une date de péremption. Lorsqu'il est correctement conservé, le réactif reste stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date d'expiration.

## PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les tissus FFPE préparés en routine sont adaptés à la coloration à l'aide de cet anticorps primaire lorsque celui-ci est utilisé avec les kits de détection VENTANA et les appareils BenchMark IHC/ISH. Les étapes suivantes sont recommandées pour la préparation des échantillons.[12]

Placer l'échantillon dans du formol neutre tamponné à 10 %. Utiliser un volume de 15 à 20 fois le volume de tissu. Aucun fixateur ne pénétrera plus de 2 à 3 mm de tissu solide ou 5 mm de tissu poreux au cours d'une période de 24 heures. Une coupe de tissu de 3 mm ou moins doit être fixée pendant pas moins de 4 heures et pas plus de 8 heures. La fixation peut être réalisée à température ambiante (15-25 °C).

Après la fixation, l'échantillon est placé dans un appareil de traitement de tissu pour la préparation pendant la nuit. En bref, ce traitement consiste en la déshydratation de l'échantillon avec des alcools suivie par l'élimination des alcools par des réactifs de clarification et, pour finir, l'infiltration par la paraffine.

Les échantillons sont inclus dans la paraffine dans des cassettes à tissu, et des coupes d'environ 4 µm d'épaisseur sont sectionnées, centrées et déposées sur des lames d'histologie. Les lames doivent être des lames Superfrost Plus ou des lames équivalentes. Le tissu doit être séché à l'air libre en plaçant les lames à température ambiante toute la nuit ou dans une étuve à 60 °C pendant 30 minutes.

Les lames doivent être colorées immédiatement, car l'antigénicité des coupes de tissu peut diminuer avec le temps. Contacter un représentant Roche pour obtenir un exemplaire du document « Recommended Slide Storage and Handling » pour de plus amples informations.

Il est recommandé de tester des contrôles positifs et négatifs en même temps que les échantillons inconnus.

## AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour utilisation en diagnostic in vitro (IVD).
2. Pour utilisation professionnelle uniquement.
3. Ne pas utiliser au-delà du nombre de tests indiqué.
4. Une solution de ProClin 300 est utilisée comme conservateur dans ce réactif. Ce conservateur classé comme produit irritant peut provoquer une sensibilisation par contact avec la peau. Prendre toutes les précautions nécessaires pendant la manipulation. Éviter tout contact des yeux, de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs. Utiliser des gants et porter des vêtements de protection.
5. Ce produit contient un maximum de 1 % de sérum bovin utilisé dans la fabrication de l'anticorps.
6. Les conditions ambiantes peuvent affecter les lames chargées positivement et conduire à une coloration inappropriée. Un représentant Roche pourra fournir plus d'informations sur l'utilisation de ces types de lames.
7. Les produits d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme du matériel présentant un risque biologique et éliminés en prenant les précautions appropriées. En cas d'exposition à un tel produit, il convient de respecter les directives des autorités de santé compétentes.[13,14]
8. Éviter tout contact des yeux et des muqueuses avec les réactifs. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.
9. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.
10. Pour plus d'informations sur l'utilisation de ce produit, se référer au guide d'utilisation de l'appareil BenchMark IHC/ISH et au mode d'emploi de tous les composants nécessaires à l'adresse navifyportal.roche.com.
11. Consulter les autorités locales et/ou nationales pour connaître la méthode d'élimination recommandée.
12. L'étiquetage de sécurité des produits suit principalement les directives SGH de l'UE. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les utilisateurs professionnels.
13. Pour signaler toute suspicion d'événement grave lié à ce dispositif, contacter un représentant Roche local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel le dispositif est utilisé.

Ce produit contient des composants classés comme suit conformément au Règlement (CE) N° 1272/2008 :

**Tableau 1.** Mentions de danger.

| Danger | Code | Mention |
|---|---|---|
| AVERTISSEMENT | H317 | Peut provoquer une allergie cutanée. |
| | H412 | Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. |
| | P261 | Éviter de respirer les brouillards ou les vapeurs. |
| | P273 | Éviter le rejet dans l'environnement. |
| | P280 | Porter des gants de protection. |
| | P333 + P313 | En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. |
| | P362 + P364 | Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. |
| | P501 | Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets agréée. |

Ce produit contient la masse de réaction de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1), numéro CAS 55965-84-9.

## PROCEDURE DE COLORATION

Les anticorps primaires VENTANA ont été développés pour être utilisés avec un appareil BenchMark IHC/ISH en association avec les kits de détection et les accessoires VENTANA. Les protocoles de coloration recommandés se trouvent dans le Tableau 2 et le Tableau 3.

Cet anticorps a été optimisé pour des temps d'incubation spécifiques, mais l'utilisateur doit valider les résultats obtenus avec ce réactif.

Les paramètres des procédures automatisées peuvent être affichés, imprimés et modifiés conformément à la procédure décrite dans le guide d'utilisation de l'appareil. Pour plus de détails sur les procédures de coloration par immunohistochimie, consulter la fiche technique du kit de détection VENTANA approprié.

Pour de plus amples informations sur l'utilisation appropriée de ce dispositif, consulter la fiche technique du distributeur de réactif associée à la référence 790-4509 ou 790-4296.

La vérification et la validation du protocole de coloration recommandé pour chaque kit de détection sont démontrées par des tests de contrôle de la conception et des résultats d'études cliniques.

Toute modification de la procédure de coloration recommandée invalide les caractéristiques de performances indiquées dans cette fiche technique. L'utilisateur doit valider toute modification apportée au protocole de coloration recommandé.

**Tableau 2.** Protocole de coloration recommandé pour l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) avec l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit sur les appareils BenchMark IHC/ISH.

| Type de procédure | Méthode | |
|---|---|---|
| | XT | ULTRA ou ULTRA PLUS |
| **Déparaffinage** | Sélectionné | Sélectionné |
| **Cell Conditioning (démasquage de l'antigène)** | CC1, standard | ULTRA CC1, standard |
| **Anticorps (primaire)** | 16 minutes, 37 °C | 16 minutes, 36 °C |
| **Contre-coloration (Hematoxylin)** | Hematoxylin II, 4 minutes | Hematoxylin II, 4 minutes |
| **Après contre-coloration** | Bluing, 4 minutes | Bluing, 4 minutes |

**Tableau 3.** Protocole de coloration recommandé pour l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) avec le kit de détection *i*VIEW DAB sur les appareils BenchMark IHC/ISH.

| Type de procédure | Méthode | |
|---|---|---|
| | XT | ULTRA |
| **Déparaffinage** | Sélectionné | Sélectionné |
| **Cell Conditioning (démasquage de l'antigène)** | CC1, standard | ULTRA CC1, standard |
| **Anticorps (primaire)** | 16 minutes, 37 °C | 16 minutes, 36 °C |
| **A/B Block (blocage de la biotine)** | Requis | Requis |
| **Contre-coloration** | Hematoxylin II, 4 minutes | Hematoxylin II, 4 minutes |
| **Après contre-coloration** | Bluing, 4 minutes | Bluing, 4 minutes |

## PROCEDURES DE CONTROLE QUALITE

### Tissu de contrôle positif

Il est considéré comme bonne pratique de laboratoire d'inclure une coupe de contrôle positive sur la même lame que le tissu à tester. Cela permet d'identifier tout problème d'application des réactifs sur la lame. Un tissu qui présente une coloration positive faible est le mieux adapté pour le contrôle qualité.

Des tissus de contrôle positif connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier les performances des réactifs et des appareils, et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur les échantillons testés. Si les tissus de contrôle positif ne présentent pas de coloration positive, les résultats de l'échantillon testé doivent alors être considérés comme non valides.

Un tissu de contrôle positif doit être inclus à chaque procédure de coloration exécutée. Le CAP recommande d'inclure un tissu de contrôle positif sur la lame de la patiente.[9] Du tissu de carcinome du sein faiblement positif, par exemple, peut être utilisé comme contrôle positif pour l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2). La coloration positive des cellules ou des composants du tissu (coloration nucléaire des cellules tumorales) est utilisée pour confirmer que l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) a été appliqué et que l'appareil a fonctionné correctement. Ce tissu peut comprendre à la fois des cellules ou des composants tissulaires positifs et des cellules ou des composants tissulaires négatifs à la coloration et peut servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif. Les tissus de contrôle doivent être des échantillons fraîchement prélevés lors d'une autopsie, d'une biopsie ou d'une intervention chirurgicale et préparés ou fixés dès que possible après le prélèvement et de manière identique aux coupes à tester. Ces tissus peuvent servir de contrôle à toutes les étapes de la procédure, de la préparation des tissus à leur coloration. L'utilisation d'une coupe de tissu fixé et préparé d'une autre manière que l'échantillon à tester servira de contrôle pour tous les réactifs et toutes les étapes de la méthode, sauf la fixation et la préparation du tissu.

Un tissu faiblement positif à la coloration est plus approprié qu'un tissu fortement positif pour un contrôle optimal de la qualité et pour détecter de faibles niveaux de dégradation des réactifs. Idéalement, un tissu de carcinome du sein, dont on sait que la coloration est faible mais positive, doit être choisi pour s'assurer que le système est suffisamment sensible aux faibles niveaux de dégradation des réactifs ou aux problèmes liés à la méthodologie de l'IHC.

Un endomètre prolifératif humain normal peut également être utilisé comme contrôle positif. Les éléments positifs à la coloration sont les noyaux des cellules de l'épithélium glandulaire, du stroma et du muscle lisse. Le tissu endométrial, en revanche, risque de ne pas présenter une coloration suffisamment faible pour détecter de faibles niveaux de dégradation des réactifs ou des problèmes liés à la méthodologie de l'IHC.

### Tissu de contrôle négatif

Utiliser un tissu de contrôle connu pour avoir été fixé, préparé et inclus de la même manière que les échantillons des patientes avec chaque série de coloration afin de vérifier la spécificité de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) pour mettre en évidence la surexpression du PR et pour fournir une indication quant au bruit de fond de coloration spécifique (faux positif à la coloration). De plus, la variété des différents types de cellules dans la plupart des coupes de tissus peut être utilisée par le laboratoire comme contrôle négatif interne pour vérifier les spécifications de performance de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2). Par exemple, le même tissu (endomètre) utilisé comme tissu de contrôle positif peut être utilisé comme tissu de contrôle négatif. Les éléments qui ne devraient pas être colorés (cytoplasme, membrane cellulaire) ne doivent présenter aucune coloration spécifique dans les cellules ne devant pas être colorées et doivent fournir une indication quant au bruit de fond de coloration spécifique. Le tissu de contrôle négatif doit être utilisé comme aide à l'interprétation des résultats. Dans de nombreux cas, les divers types cellulaires présents dans la plupart des coupes de tissu peuvent constituer des sites de contrôle négatif, mais cela doit être vérifié par l'utilisateur. Si les sites de contrôle négatif du tissu de contrôle présentent une coloration spécifique, les résultats des échantillons des patients doivent être considérés comme non valides.

### Réactif de contrôle négatif

Une lame doit être colorée avec un réactif de contrôle négatif approprié pour chaque échantillon afin de faciliter l'interprétation des résultats. Un réactif de contrôle négatif est utilisé à la place de l'anticorps primaire pour évaluer la coloration non spécifique et permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique au niveau du site antigénique. Cela donne une indication du bruit de fond de coloration non spécifique pour chaque lame. Au lieu d'utiliser l'anticorps primaire, colorer la lame avec la CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, une IgG de lapin non immunisé purifiée, qui ne réagit pas avec les échantillons humains. Si un autre réactif de contrôle négatif est utilisé, le diluer à la même dilution que celle de l'antisérum de l'anticorps primaire avec le VENTANA Antibody Diluent. L'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) contient environ 0.2 % de sérum de veau fœtal résiduel. Le VENTANA Antibody Diluent complété avec 0.2 % de sérum de veau fœtal peut également servir de réactif de contrôle négatif non spécifique. Le temps d'incubation avec le réactif de contrôle négatif doit être le même que celui utilisé avec l'anticorps primaire.

Lorsque des panels de plusieurs anticorps sont utilisés sur des coupes sériées, un réactif de contrôle négatif appliqué sur une des lames peut servir de contrôle de bruit de fond de liaison non spécifique ou négatif pour les autres anticorps.

### Vérification du test

Avant de commencer à utiliser cet anticorps dans une procédure diagnostique, ou à chaque fois qu'un nouveau lot de l'anticorps est utilisé, la spécificité de l'anticorps doit être vérifiée en colorant plusieurs tissus positifs et négatifs dont les caractéristiques de performances sont connues. Se référer aux procédures de contrôle qualité précédemment décrites dans cette section de la notice du produit et aux recommandations de contrôle de qualité du College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, de l'Anatomic Pathology Checklist ou de la CLSI Approved Guideline ou des deux

documents.[16,17] Ces procédures de contrôle qualité doivent être répétées pour chaque nouveau lot d'anticorps ou chaque fois que le numéro de lot de l'un des réactifs d'un réglage apparié est modifié ou que les paramètres du test sont modifiés. Le contrôle qualité ne peut pas être effectué de manière significative sur un réactif individuel pris isolément, car les réactifs appariés, ainsi qu'un protocole de test défini, doivent être testés à l'unisson avant l'utilisation d'un kit à des fins de diagnostic. Les tissus indiqués dans la rubrique « Résumé des résultats attendus » sont appropriés pour la vérification du test.

Tous les contrôles qualité requis doivent être réalisés conformément aux réglementations locales, nationales ou régionales ou aux critères d'accréditation.

## INTERPRETATION DE LA COLORATION/RESULTATS ATTENDUS

La procédure de coloration conduit à la précipitation d'un produit de réaction coloré au niveau des sites antigéniques localisés par l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2). Un anatomopathologiste qualifié, expert en procédures d'IHC, doit évaluer les contrôles positifs et négatifs ainsi que la qualité de la coloration avant d'interpréter les résultats. Le statut quant à l'expression du récepteur de la progestérone est déterminé par le pourcentage de cellules tumorales colorées. Un cas est considéré PR positif si une coloration est présente dans le noyau d'au moins 1 % des cellules tumorales.[9]

### Tissu de contrôle positif

Le tissu de contrôle positif coloré avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) doit être examiné en premier pour vérifier que tous les réactifs fonctionnent correctement. La présence d'un produit de réaction brun (3,3' diaminobenzidine tétrachlorure, DAB) dans le noyau des cellules cibles indique une réactivité positive. Un exemple de tissu pouvant être utilisé en tant que contrôle positif est un tissu de carcinome du sein dont on sait qu'il est faiblement positif (p. ex. ≥ 1 %). Le noyau des cellules tumorales doit être positif. Il est impératif que seule la coloration nucléaire soit considérée comme une coloration positive pour éviter les faux positifs découlant d'une interprétation erronée. Il est aussi possible d'utiliser de l'endomètre humain normal. Dans l'endomètre normal, la coloration pour PR est observée dans le noyau des cellules du stroma et des glandes endométriales. Si les tissus de contrôle positif ne présentent pas de coloration positive appropriée, les résultats obtenus avec les échantillons à tester doivent alors être considérés comme non valides.

### Tissu de contrôle négatif

Le tissu de contrôle négatif doit être examiné après le tissu de contrôle positif pour vérifier le marquage spécifique de l'antigène cible par l'anticorps primaire. L'absence de coloration spécifique dans le tissu de contrôle négatif confirme l'absence de réaction croisée de l'anticorps avec des cellules ou des éléments cellulaires. Le tissu de carcinome du sein utilisé comme contrôle positif peut aussi être utilisé comme tissu de contrôle négatif. Certains éléments stromaux dont on sait qu'ils sont PR négatifs, tels que les cellules endothéliales, ne doivent présenter aucune coloration nucléaire. Si le tissu de contrôle négatif présente une coloration spécifique, les résultats de l'échantillon du patient doivent être considérés comme non valides.

Une coloration non spécifique, si elle est présente, aura un aspect diffus. Une légère coloration sporadique du tissu conjonctif peut aussi être observée dans les coupes de tissus dont la fixation au formol a été trop longue. Des cellules intactes doivent être utilisées pour interpréter les résultats de la coloration, car les cellules nécrotiques ou dégénérées présentent souvent une coloration non spécifique.[18]

### Tissu des patients

Les échantillons des patientes colorés à l'aide de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) doivent être examinés en dernier. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée par rapport à l'éventuel bruit de fond de coloration non spécifique obtenu avec le réactif de contrôle négatif. Le PR peut être détecté dans d'autres néoplasmes, tels que le cancer de l'ovaire et de l'endomètre.[19] Lors de l'interprétation de tout résultat d'immunohistochimie, la morphologie de chaque échantillon de tissu doit également être examinée à l'aide d'une lame colorée à l'hématoxyline et à l'éosine. Les caractéristiques morphologiques et les données cliniques pertinentes du patient doivent être interprétées par un anatomopathologiste qualifié. Consulter les rubriques « Résumé et explication », « Limites » et « Résumé des résultats attendus » pour toute information spécifique concernant l'immunoréactivité.

## LIMITES

### Limites générales

1. L'IHC est une procédure de diagnostic à plusieurs étapes nécessitant une formation spécialisée pour le choix des réactifs appropriés, la fixation et la préparation des tissus, la préparation des lames d'immunohistochimie et l'interprétation des résultats de la coloration.
2. La coloration des tissus dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une réalisation incorrecte des étapes de fixation, congélation, décongélation, rinçage, séchage, chauffage, coupe, ou une contamination par d'autres tissus ou liquides, peut entraîner des artéfacts, un piégeage des anticorps ou l'obtention de faux négatifs. Des résultats incohérents peuvent être la conséquence de variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion ou d'irrégularités inhérentes au tissu.
3. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre l'interprétation correcte des résultats.
4. L'interprétation clinique de toute coloration positive, ou de son absence, doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques, de la morphologie et d'autres critères histopathologiques. L'interprétation clinique de toute coloration, ou de son absence, doit être complétée par des examens morphologiques et des contrôles appropriés, ainsi que par d'autres tests diagnostiques. Cet anticorps est destiné à être utilisé dans un panel d'anticorps. Il est de la responsabilité d'un anatomopathologiste qualifié de se familiariser avec les anticorps, les réactifs et les méthodes utilisés pour produire la préparation colorée. La coloration doit être réalisée dans un laboratoire autorisé et accrédité, sous le contrôle d'un anatomopathologiste responsable de l'examen des lames colorées et de l'adéquation des contrôles positifs et négatifs.
5. Ventana fournit des anticorps et des réactifs à la dilution optimale pour une utilisation conforme aux instructions fournies. Tout écart par rapport aux procédures de test recommandées peut invalider les résultats attendus. Des contrôles appropriés doivent être utilisés et documentés. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent assumer la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients.
6. Ce produit n'est pas conçu pour être utilisé en cytométrie de flux ; les caractéristiques de performances n'ont pas été déterminées.
7. Les réactifs peuvent produire des réactions inattendues sur des tissus qui n'ont pas été testés auparavant. La possibilité d'obtenir des réactions inattendues, même sur des groupes de tissus déjà testés, ne peut pas être complètement exclue en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou d'autres tissus pathologiques.[20] Contacter le représentant du service client local avec les réactions inattendues documentées.
8. Les tissus de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg) peuvent développer une coloration non spécifique avec la peroxydase de raifort.[21]
9. Lorsqu'ils sont utilisés dans les étapes de blocage, les sérums normaux de la même source animale que les antisérums secondaires peuvent causer des résultats faussement négatifs ou positifs à cause d'autoanticorps ou d'anticorps naturels.
10. Des faux positifs peuvent se présenter en raison de liaisons non immunologiques des protéines ou des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par une activité pseudoperoxydasique (érythrocytes), une activité de la peroxydase endogène (cytochrome C) ou la biotine endogène (par exemple : foie, cerveau, sein ou rein) selon la méthode d'immunocoloration utilisée.[18]
11. Comme pour tout test IHC, un résultat négatif indique uniquement que l'antigène en question n'a pas été détecté, pas qu'il est absent des cellules ou du tissu analysés.

### Limites spécifiques

1. L'anticorps, utilisé en association avec les kits de détection et les accessoires VENTANA, détecte l'antigène qui résiste aux conditions habituelles de fixation au formol, de préparation et de coupe des tissus. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent assumer la responsabilité de l'interprétation et de la validation des résultats des patients.
2. Un résultat négatif avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) n'exclut pas la présence du PR. Les réactions négatives dans les carcinomes du sein peuvent être dues à une perte ou une réduction importante de l'expression de l'antigène. Il est par conséquent recommandé d'utiliser cet anticorps dans le cadre d'un panel d'anticorps comprenant des anticorps dirigés contre le récepteur des œstrogènes.
3. Une coloration nucléaire positive avec l'anticorps clone 1E2 a été observée dans les tissus d'amygdale.[22] L'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) n'est pas indiqué pour une utilisation sur l'amygdale. Par conséquent, si le tissu amygdalien est utilisé comme contrôle de tissu négatif, les tissus amygdaliens doivent être examinés pour s'assurer qu'un cas de coloration négative est sélectionné.

Tous les tests ne sont pas forcément enregistrés sur chaque appareil. Contacter votre représentant Roche local pour plus d'informations.

## CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

### PERFORMANCES ANALYTIQUES

Des tests de coloration ont été réalisés pour évaluer la sensibilité, la spécificité et la précision. Leurs résultats sont présentés ci-dessous.

#### Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) a été déterminée par coloration de plusieurs cas de tissus humains normaux. Les résultats se trouvent dans le Tableau 4 et le Tableau 5. Tous les tissus examinés présentaient une coloration positive nucléaire, sauf un cas de tissu ovarien qui, de façon inattendue, était négatif. Le tissu thyroïdien était positif à la coloration, mais cela avait déjà été décrit.[23] Une coloration nucléaire positive dans le tissu amygdalien a déjà été observée avec l'anticorps clone 1E2.[22]

**Tableau 4.** Sensibilité et spécificité de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) déterminées par coloration de tissus normaux FFPE.

| Tissu | Nbre de positifs/nbre total | Tissu | Nbre de positifs/nbre total |
|---|---|---|---|
| Cerveau | 0/5 | Œsophage | 0/3 |
| Cervelet | 0/3 | Estomac | 0/3 |
| Glande surrénale | 0/3 | Intestin grêle | 0/3 |
| Ovaire | 2/3 | Côlon | 0/3 |
| Pancréas | 3/3 | Foie | 0/3 |
| Parathyroïde | 0/4 | Glande salivaire | 0/3 |
| Hypophyse | 3/3 | Rein | 0/3 |
| Testicule | 0/3 | Prostate | 1/3 |
| Thyroïde | 0/5 | Vessie | 0/5 |
| Sein [a] | 4/4 | Endomètre | 1/3 |
| Rate | 1/3 | Col de l'utérus | 8/8 |
| Amygdale | 1/3 | Muscle squelettique | 0/5 |
| Thymus | 0/3 | Peau | 0/3 |
| Moelle osseuse | 0/3 | Nerf | 0/3 |
| Poumon | 0/3 | Mésothélium | 0/3 |
| Cœur | 0/3 | | |

[a] Tissu comprenant du tissu fibro-adipeux.

L'immunoréactivité de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) a été déterminée par coloration de plusieurs cas de tissus humains néoplasique. Les cas étaient considérés PR positifs si une coloration était présente dans le noyau de ≥ 1 % des cellules tumorales invasives.

**Tableau 5.** Sensibilité et spécificité de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) déterminées par coloration de divers tissus néoplasiques FFPE.

| Pathologie | Nbre de positifs/nbre total |
|---|---|
| Glioblastome (cerveau) | 0/1 |
| Méningiome (cerveau) | 0/1 |
| Épendymome (cerveau) | 0/1 |
| Oligodendrogliome (cervelet) | 0/1 |
| Adénocarcinome séreux (ovaire) | 1/1 |
| Adénocarcinome mucineux (ovaire) | 0/1 |
| Néoplasme neuroendocrine (pancréas) | 1/1 |
| Adénocarcinome (pancréas) | 0/1 |
| Séminome (testicule) | 0/1 |
| Carcinome embryonnaire (testicule) | 0/1 |
| Carcinome médullaire (thyroïde) | 1/1 |
| Carcinome papillaire (thyroïde) | 0/1 |
| Carcinome canalaire in situ (sein) | 1/1 |
| Carcinome canalaire invasif (sein) | 0/1 |
| Lymphome B, SAI (rate) | 0/1 |
| Carcinome à petites cellules (poumon) | 0/1 |
| Carcinome épidermoïde (poumon) | 0/1 |
| Adénocarcinome (poumon) | 0/1 |
| Carcinome épidermoïde (œsophage) | 0/1 |
| Adénocarcinome (œsophage) | 0/1 |
| Adénocarcinome mucineux (estomac) | 0/1 |
| Adénocarcinome (intestin) | 0/1 |
| Adénocarcinome (côlon) | 0/1 |
| Tumeur mésenchymateuse maligne mixte (côlon) | 0/1 |
| Adénocarcinome (rectum) | 0/1 |
| Tumeur mésenchymateuse maligne mixte (rectum) | 0/1 |
| Mélanome (rectum) | 0/1 |
| Carcinome hépatocellulaire (foie) | 0/1 |
| Hépatoblastome (foie) | 0/1 |
| Carcinome à cellules claires (rein) | 0/1 |
| Adénocarcinome (prostate) | 1/1 |
| Carcinome urothélial (urètre prostatique) | 1/1 |
| Léiomyome (utérus) | 1/1 |
| Adénocarcinome (utérus) | 1/2 |
| Carcinome à cellules claires (utérus) | 0/1 |
| Carcinome épidermoïde (col de l'utérus) | 1/1 |
| Rhabdomyosarcome embryonnaire (muscle strié) | 0/1 |
| Carcinome épidermoïde (muscle strié) | 0/1 |
| Carcinome basocellulaire (peau) | 0/1 |
| Neurofibrome (médiastin) | 1/1 |
| Neuroblastome (rétropéritoine) | 1/1 |
| Mésothéliome (péritoine) | 0/1 |
| Lymphome de Hodgkin (ganglion lymphatique) | 0/1 |
| Lymphome, SAI (ganglion lymphatique) | 0/2 |
| Lymphome B SAI (ganglion lymphatique) | 0/1 |
| Carcinome urothélial (vessie) | 0/1 |

La sensibilité dépend de la préservation de l'antigène. Toute manipulation inappropriée lors de la fixation, de l'inclusion, de la coupe ou du stockage qui altère l'antigénicité

affaiblit la détection du PR par l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) et peut générer des faux négatifs.

### Précision sur les appareils BenchMark XT et BenchMark ULTRA

Six cas de tissus différents ont été colorés dans le cadre de l'évaluation de la répétabilité. Sur les six tissus, deux présentaient une forte expression du PR, deux présentaient une faible expression du PR et deux étaient PR négatifs, avec un seuil de < 1 % de cellules tumorales colorées pour les tissus négatifs, de 1-10 % pour une faible expression et de > 10 % pour une forte expression.

Pour les tests de répétabilité intracycle, neuf lames de chaque cas ont été colorées avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2), et une lame de chaque cas a été colorée avec l'anticorps CONFIRM Negative Control Rabbit Ig sur un appareil BenchMark XT. La même configuration de test a également été réalisée sur un appareil BenchMark ULTRA. La concordance des résultats des colorations pour la répétabilité intracycle de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur les appareils BenchMark XT et BenchMark ULTRA était de 100 % sur tous les tissus positifs pour les six cas.

Pour l'évaluation de la précision intermédiaire interjournalière, quatre lames de chaque cas ont été colorées avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) et une lame de chaque cas a été colorée avec l'anticorps CONFIRM Negative Control Rabbit Ig dans cinq séries non consécutives distinctes réalisées sur une période de 20 jours sur un appareil BenchMark XT. La même configuration de test a également été réalisée sur un appareil BenchMark ULTRA. La concordance des résultats des colorations pour la précision intermédiaire interjournalière de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur les appareils BenchMark XT et BenchMark ULTRA étaient de 100 % sur tous les tissus positifs pour les six cas.

Pour l'évaluation de la précision intermédiaire interappareils BenchMark XT, quatre lames de six cas ont été colorées avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur trois appareils BenchMark XT différents. Une seule lame de chaque cas a été colorée avec l'anticorps CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Les précisions intermédiaires interappareils avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur les trois appareils BenchMark XT étaient 100 % concordantes pour les six cas.

Pour l'évaluation de la précision intermédiaire interappareils BenchMark ULTRA, quatre lames de six cas ont été colorées avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur trois instruments BenchMark ULTRA différents. Une seule lame de chaque cas a été colorée avec l'anticorps CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. La concordance des résultats des colorations pour la précision intermédiaire interappareil avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur les trois appareils BenchMark ULTRA étaient de 100 % pour les six cas.

Tous les tests de reproductibilité satisfaisaient aux critères d'acceptation.

### Précision sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS

Neuf cas de tissus différents ont été colorés dans le cadre de l'évaluation de la précision. Sur les neuf tissus, trois présentaient une forte expression du PR, trois présentaient une faible expression du PR et trois étaient négatifs au PR, avec un seuil de < 1 % de cellules tumorales colorées pour les tissus négatifs, de 1-10 % pour une faible expression et de > 10 % pour une forte expression.

Pour les tests de répétabilité intracycle, cinq lames de chaque cas ont été colorées avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2), et une lame de chaque cas a été colorée avec l'anticorps CONFIRM Negative Control Rabbit Ig sur un appareil BenchMark ULTRA PLUS. La répétabilité intracycle de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS était concordante à 100 %. Les lames colorées au CONFIRM Negative Control Rabbit Ig étaient acceptables pour le signal et le fond.

Pour l'évaluation de la précision intermédiaire interjournalière, deux lames de chaque cas ont été colorées avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) et une lame de chaque cas a été colorée avec l'anticorps CONFIRM Negative Control Rabbit Ig lors cinq séries non consécutives distinctes réalisées sur une période de 20 jours sur un appareil BenchMark ULTRA PLUS. La précision intermédiaire interjournalière de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS était concordante à 97.8 %. Les lames colorées au CONFIRM Negative Control Rabbit Ig étaient acceptables pour le signal et le fond.

Pour l'évaluation de la précision intermédiaire interappareils BenchMark ULTRA PLUS, deux lames de chaque cas ont été colorées avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur trois appareils BenchMark ULTRA PLUS différents. Une seule lame de chaque cas a été colorée avec l'anticorps CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. La concordance des résultats des colorations pour la précision intermédiaire interappareils de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur les trois appareils BenchMark ULTRA PLUS était de 98.1 %.

### Reproductibilité interlaboratoires

Une étude de reproductibilité inter-laboratoires pour l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) a été menée avec 14 lames de tissu de cancer du sein (huit positives, deux faiblement positives, quatre négatives) colorées sur trois appareils BenchMark XT et trois appareils BenchMark ULTRA à l'aide des kits de détection *i*VIEW DAB et *ultra*View Universal DAB Detection Kit, lors de cinq journées non consécutives sur une période minimale de 20 jours dans trois laboratoires externes. Les échantillons ont été randomisés et évalués par un total de six anatomopathologistes (deux anatomopathologistes par centre) pour le pourcentage de cellules tumorales colorées. Un cas était considéré PR positif si une coloration était présente dans le noyau d'au moins 1 % des cellules tumorales invasives.[9]

Pour la précision intersites, la concordance positive moyenne (APA) et la concordance négative moyenne (ANA) pour l'évaluation clinique de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) étaient de, respectivement, 99.7 et 99.1 % sur l'appareil BenchMark ULTRA avec le kit de détection *i*VIEW, 98.6 et 95.4 % sur l'appareil BenchMark ULTRA avec l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit, 99.4 et 98.4 % sur l'appareil BenchMark XT avec le kit de détection *i*VIEW, et 97.4 et 91.3 % sur l'appareil BenchMark XT avec l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Pour la précision interjournalière, les taux APA et ANA pour l'évaluation clinique des anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) étaient respectivement de 99.7 % et 99.1 % sur l'appareil BenchMark ULTRA avec le kit de détection *i*VIEW ; 98.5 % et 95.5 % sur l'appareil BenchMark ULTRA avec *ultra*View Universal DAB Detection Kit ; 99.3 % et 98.3 % sur l'appareil BenchMark XT avec le kit de détection *i*VIEW ; et 97.0 % et 90.8 % sur l'appareil BenchMark XT avec *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Pour la précision inter-lecteurs, les taux APA et ANA pour l'évaluation clinique des anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) étaient respectivement de 99.7 % et 99.1 % sur l'appareil BenchMark ULTRA avec le kit de détection *i*VIEW ; 98.6 % et 95.6 % sur l'appareil BenchMark ULTRA avec *ultra*View Universal DAB Detection Kit ; 99.3 % et 98.3 % sur l'appareil BenchMark XT avec le kit de détection *i*VIEW ; et 98.6 % et 95.1 % sur l'appareil BenchMark XT avec *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Pour la précision interplateformes sur les appareils BenchMark ULTRA et BenchMark XT, les taux APA et ANA étaient respectivement de 99.5 % et 98.7 % pour la détection sur *i*VIEW, et de 98.0 % et 93.9 % pour l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Pour la précision intraplateforme, les taux APA et ANA étaient respectivement de 98.7 % et 96.4 % pour l'appareil BenchMark ULTRA et de 97.4 % et 92.6 % pour l'appareil BenchMark XT.

### Comparaison de le kit de détection *i*VIEW DAB et de l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2).

L'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) a été utilisé pour effectuer des tests de comparaison de détection entre deux appareils (BenchMark XT et BenchMark ULTRA) à l'aide de l'*i*VIEW DAB Detection Kit et de l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit. Cent quatre-vingt-dix-neuf cas de tissus ont été utilisés dans le cadre des tests. Environ la moitié des cas sont positifs et l'autre moitié des cas sont négatifs, tel que déterminé par le pourcentage de cellules tumorales colorées. Les lames colorées ont été évaluées par des anatomopathologistes qui ont déterminé le pourcentage de cellules tumorales colorées. Un cas était considéré PR positif si une coloration était présente dans le noyau d'au moins 1 % des cellules tumorales.

Les taux d'acceptabilité de la morphologie et du bruit de fond étaient de 100 % pour les deux kits de détection et les deux appareils, sauf pour l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit sur l'appareil BenchMark ULTRA, qui avait un taux d'acceptabilité du bruit de fond de 99.5 %. Les comparaisons directes des évaluations cliniques des cas positifs et des cas négatifs avec les deux kits de détection sur chaque plateforme sont présentées dans le Tableau 6 pour l'appareil BenchMark ULTRA et dans le Tableau 7 pour l'appareil BenchMark XT.

**Tableau 6.** Comparaison des évaluations cliniques avec l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit et le kit de détection *i*VIEW DAB sur l'appareil BenchMark ULTRA.

| Réaction de l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit | *i*VIEW DAB Detection Kit | | |
|---|---|---|---|
| | Positif | Négatif | Total |
| Positif | 94 | 11 | 105 |
| Négatif | 2 | 86 | 88 |
| Total | 96 | 97 | 193 |

| Réaction de l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit | *i*VIEW DAB Detection Kit | | |
|---|---|---|---|
| | Positif | Négatif | Total |
| | n/N | % (CI à 95 %) | |
| Taux de concordance positive | 94/96 | 97.9 (92.7-99.4) | |
| Taux de concordance négative | 86/97 | 88.7 (80.8-93.5) | |
| Taux de concordance globale | 180/193 | 93.3 (88.8-96.0) | |

**Tableau 7.** Comparaison des évaluations cliniques avec l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit et le kit de détection *i*VIEW DAB Detection Kit sur l'appareil BenchMark XT.

| Réaction de l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit | *i*VIEW DAB Detection Kit | | |
|---|---|---|---|
| | Positif | Négatif | Total |
| Positif | 91 | 14 | 105 |
| Négatif | 2 | 86 | 88 |
| Total | 93 | 100 | 193 |
| | n/N | % (CI à 95 %) | |
| Taux de concordance positive | 91/93 | 97.8 (92.5-99.4) | |
| Taux de concordance négative | 86/100 | 86.0 (77.9-91.5) | |
| Taux de concordance globale | 177/193 | 91.7 (87.0-94.8) | |

Les taux de concordance entre les évaluations cliniques réalisées avec les deux kits de détection sur les deux appareils étaient supérieurs à 90 %, avec un taux de 93.3 % (n = 193) pour l'appareil BenchMark ULTRA et de 91.7 % (n = 193) pour l'appareil BenchMark XT. La comparaison de l'anticorps sur l'*ultra*View Universal DAB Detection Kit et l'*i*VIEW DAB Detection Kit présentait des taux de concordance des scores de coloration de 90.2 % (n = 193) et 85.5 % (n = 193).

### Comparaison des performances de l'anticorps sur l'appareil BenchMark ULTRA et sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS

Une étude a été réalisée en vue de comparer les performances de la coloration à l'aide de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS et sur l'appareil BenchMark ULTRA. Cent trente-quatre (134) cas de tissus de carcinome mammaire (61 PR positifs, 61 PR négatifs et 12 à la limite du PR positif), représentant la plage clinique couverte par le test. Les lames colorées ont été évaluées par des anatomopathologistes qui ont déterminé le pourcentage de cellules tumorales colorées. Un cas était considéré PR positif si une coloration était présente dans le noyau de ≥ 1 % des cellules tumorales invasives.[9] Les comparaisons directes entre les statuts PR positifs et négatifs déterminés à partir des colorations réalisées sur l'appareil BenchMark ULTRA et sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS se trouvent dans le Tableau 8.

**Tableau 8.** Anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS et anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA (à l'exclusion des cas positifs limites).

| Appareil BenchMark ULTRA PLUS | Appareil BenchMark ULTRA | | |
|---|---|---|---|
| | Positif | Négatif | Total |
| Positif | 79 | 2 | 81 |
| Négatif | 6 | 23 | 29 |
| Total | 85 | 25 | 110 |
| | n/N | % (CI à 95 %) | |
| Taux de concordance positive | 79/85 | 92.9 (85.4-96.7) | |
| Taux de concordance négative | 23/25 | 92.0 (75.0-97.8) | |
| Taux de concordance globale | 102/110 | 92.7 (86.3-96.3) | |

Le taux d'acceptabilité de la morphologie pour toutes les lames colorées dans cette étude était de 100.0 % (CI à 95 % : 97.2 %-100.0 %) pour l'appareil BenchMark ULTRA PLUS.

Le taux d'acceptabilité du bruit de fond était de 100.0 % (CI à 95 % : 97.2 %-100.0 %) pour l'appareil BenchMark ULTRA PLUS.

## PERFORMANCES CLINIQUES

### Comparaison des anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) et FLEX anti-PR (PgR 636)

Une étude randomisée, multicentrique et multilecteurs a été menée en vue de comparer les performances de la coloration par l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur les appareils BenchMark ULTRA et BenchMark XT à celles de la coloration par l'anticorps Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR [PgR 636]) sur l'appareil Dako Autostainer Plus. Sur les appareils BenchMark IHC/ISH, la biotine endogène a été bloquée à l'aide du VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit. L'anticorps a été détecté avec l'*i*VIEW DAB Detection Kit. Sur la plateforme Dako, l'anticorps a été détecté avec le kit de détection EnVision Flex, High pH. Environ 120 cas de cancer du sein négatifs et 216 cas de cancer du sein positifs, représentant la plage clinique couverte par le test, ont été randomisés entre trois centres d'étude, de telle sorte que chaque centre reçoive le même nombre de cas et que chaque centre reçoive des cas représentant chaque catégorie d'évaluation clinique. Chaque centre a coloré les cas qui lui étaient attribués avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur un appareil BenchMark ULTRA, l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur un appareil BenchMark XT, et avec le FLEX anti-PR (PgR 636) sur un Dako Autostainer Plus. Les lames colorées ont été évaluées par des anatomopathologistes qui ont déterminé le pourcentage de cellules tumorales colorées. Un cas était considéré PR positif si une coloration était présente dans le noyau de ≥ 1 % des cellules tumorales invasives.[9]

**Tableau 9.** Comparaison de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA et de l'anticorps FLEX anti-PR (PgR 636) sur l'appareil Dako Autostainer Plus

| Anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) | FLEX anti-PR (PgR 636) | | |
|---|---|---|---|
| | Positif | Négatif | Total |
| Positif : | 200 | 7 | 207 |
| Négatif : | 9 | 104 | 113 |
| Total : | 209 | 111 | 320 |
| | n/N | % (CI à 95 %) | |
| Taux de concordance positive | 200/209 | 95.7 (92.0-97.7) | |
| Taux de concordance négative | 104/111 | 93.7 (87.6-96.9) | |
| Taux de concordance globale | 304/320 | 95.0 (92.0-96.9) | |

**Tableau 10.**Comparaison de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark XT et de l'anticorps FLEX anti-PR (PgR 636) sur l'appareil Dako Autostainer Plus

| Anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) | FLEX anti-PR (PgR 636) | | |
|---|---|---|---|
| | Positif | Négatif | Total |
| Positif : | 186 | 9 | 195 |
| Négatif : | 18 | 100 | 118 |
| Total : | 204 | 109 | 313 |
| | n/N | % (CI à 95 %) | |
| Taux de concordance positive | 186/204 | 91.2 (86.5-94.3) | |
| Taux de concordance négative | 100/109 | 91.7 (85.0-95.6) | |
| Taux de concordance globale | 286/313 | 91.4 (87.7-94.0) | |

Les taux de concordance pour les positifs, les négatifs et global entre la coloration avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur les appareils BenchMark ULTRA et BenchMark XT et la coloration avec l'anticorps FLEX anti-PR (PgR 636) sur l'appareil Dako Autostainer Plus étaient tous supérieurs à 90 %.

**Tableau 11.**Comparaison de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA et de l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark XT.

| Appareil BenchMark ULTRA | Appareil BenchMark XT | | |
|---|---|---|---|
| | Positif | Négatif | Total |
| Positif : | 184 | 12 | 196 |
| Négatif : | 6 | 105 | 111 |
| Total : | 190 | 117 | 307 |
| | n/N | % (CI à 95 %) | |
| Taux de concordance positive | 184/190 | 96.8 (93.3-98.5) | |
| Taux de concordance négative | 105/117 | 89.7 (82.9-94.0) | |
| Taux de concordance globale | 289/307 | 94.4 (90.9-96.3) | |

Les taux de concordance pour les positifs, de concordance pour les négatifs et de concordance globale entre la coloration avec l'anticorps CONFIRM anti-PR (1E2) sur l'appareil BenchMark ULTRA et sur l'appareil BenchMark XT étaient tous supérieurs à 89 %.

Les taux d'acceptabilité de la morphologie pour toutes les lames colorées dans cette étude étaient de 99.7 % (CI à 95 % : 98.3 %-99.9 %) sur l'appareil BenchMark ULTRA et 96.1 % (CI à 95 % : 93.5 %-97.7 %) sur l'appareil BenchMark XT. Les taux d'acceptabilité de la morphologie étaient de 99.4 % (CI à 95 % : 97.9 %-99.8 %) sur l'appareil BenchMark ULTRA et 95.2 % (CI à 95 % : 92.4 %-97.0 %) sur l'appareil BenchMark XT.

## RESOLUTION DES PROBLEMES

1. Si le contrôle positif présente une coloration plus faible qu'attendue, vérifier les autres contrôles positifs colorés simultanément pour déterminer si cela est dû à l'anticorps primaire ou à l'un des réactifs secondaires communs.
2. Si le contrôle positif est négatif, vérifiez si la lame porte la bonne étiquette à code-barres. Si l'étiquette de la lame est correcte, vérifier les autres contrôles positifs colorés simultanément pour déterminer si cela est dû à l'anticorps primaire ou à l'un des réactifs secondaires communs. Les tissus n'ont peut-être pas été correctement prélevés, fixés ou déparaffinés. Suivez la procédure appropriée pour le prélèvement, la conservation et la fixation.
3. Si la coloration de fond est excessive, il est possible qu'un niveau élevé de biotine endogène soit présent. Inclure une étape de blocage de la biotine.
4. Si toute la paraffine n'a pas été éliminée, répéter la procédure de déparaffinage.
5. Si la coloration spécifique à l'aide de l'anticorps est trop intense, refaire la coloration en réduisant séquentiellement le temps d'incubation de l'anticorps primaire de quatre minutes jusqu'à ce que l'intensité souhaitée soit atteinte.
6. Si les coupes de tissu se détachent des lames, vérifier que les lames sont positivement chargées.
7. Pour les mesures correctives, consulter la section « Procédure pas à pas » du guide d'utilisation de l'appareil ou contacter un représentant du service client local.

## RÉFÉRENCES


1. Kariagina A, Aupperlee MD, Haslam SZ. Progesterone receptor isoform functions in normal breast development and breast cancer. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2008;18(1):11-33.
2. Grimm SL, Hartig SM, Edwards DP. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. J Mol Biol. 2016;428(19):3831-3849.
3. Tanos T, Rojo L, Echeverria P, et al. ER and PR signaling nodes during mammary gland development. Breast Cancer Res. 2012;14(4):210.
4. Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2017;26(4):444-457.
5. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2019.
6. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Ann Oncol. 2013;24(9):2206-2223.
7. Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. Rev Endocr Metab Disord. 2007;8(3):229-239.
8. Horwitz KB, McGuire WL. Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. Science. 1975;189(4204):726-727.
9. Hammond ME, Hayes DF, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. Arch Pathol Lab Med. 2010;134(6):907-22.
10. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, et al. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. J Clin Oncol. 2003;21(10):1973-1979.
11. Ravdin PM, Green S, Dorr TM, et al. Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. J Clin Oncol. 1992;10(8):1284-1291.
12. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
13. Occupational Safety and Health Standard: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
14. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
15. Roche PC, His ED. Immunhistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
16. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2010.
17. CLSI. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. CLSI document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
18. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.
19. Press MF, Greene GL. Localization of progesterone receptor with monoclonal antibodies to the human progestin receptor. Endocrinology. 1988;122(3):1165-1175.
20. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
21. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5):626-32.
22. Guadagno E, De Rosa G, Nappi O. A National Quality Assurance Program for Breast Immunohistochemistry: An Italian Perspective. Pathologica. 2018;110(2):83-91.
23. Money SR, Muss W, Thelmo WL, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterone receptors in human thyroid. Surgery. 1989;106(6):975-8.


**REMARQUE** : Un point est toujours utilisé dans ce document comme séparateur décimal et indique la séparation entre la partie entière et la partie décimale d'un nombre. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Le résumé des résultats sur la sécurité et les performances est disponible ici :

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

### Symboles

Ventana utilise les symboles et les signes suivants en plus de ceux indiqués dans la norme ISO 15223-1 (pour les USA, voir elabdoc.roche.com/symbols pour de plus amples informations).

| | |
|---|---|
| GTIN | Code article international |
| Rx only | Pour les USA : Attention : La loi fédérale stipule que ce produit peut uniquement être vendu par un médecin ou sur prescription médicale. |

## HISTORIQUE DES REVISIONS

| Rév. | Mises à jour |
|---|---|
| H | Correction de la référence au tableau 8. Mises à jour avec les modèles actuels. |

## PROPRIETE INTELLECTUELLE

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, et ULTRAVIEW sont des marques commerciales de Roche. Tous les autres noms de produit et marques commerciales appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

## COORDONNEES

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

EC REP

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

CE 0123