



CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4324  50

05278406001

REF 790-4325  250

05278414001

IVD

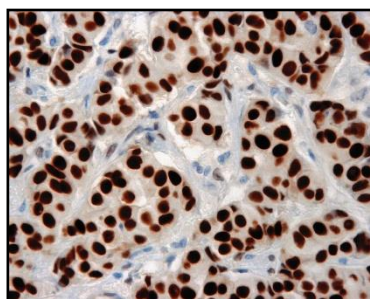


Figura 1. Tinción del carcinoma lobulillar de mama con el anticuerpo CONFIRM anti ER (SP1)

USO PREVISTO

CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1)) está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa del antígeno receptor de estrógeno (ER) en secciones de tejido mamario fijado con formol y embebido en parafina mediante el módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA con kits de detección y reactivos auxiliares VENTANA. El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) está dirigido contra un epítipo presente

en la proteína alfa ER humana que se encuentra en el núcleo de las células ER neoplásicas y positivas normales. El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se recomienda para contribuir al control, el pronóstico y la predicción de las terapias hormonales para tratar el carcinoma de mama.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Uso exclusivo con receta médica.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) es un anticuerpo monoclonal de conejo que detecta la presencia del receptor de estrógeno alfa humano (ER). El ER es un receptor de hormonas nuclear codificado por dos genes diferentes, ESR1 y ESR2, que transcriben las isoformas alfa y beta respectivamente.^{1,2} ER alfa es la expresión de la isoforma primaria en células epiteliales luminales de tejido mamario.^{1,2} La actividad del ER estimula el desarrollo normal de la glándula mamaria y es necesaria para la diferenciación y la proliferación en el epitelio mamario adulto.^{3,4} En las células neoplásicas, la hiperactividad del ER, provocada por una sobreexpresión del receptor, da lugar a una serie de eventos celulares cuyo resultado es la hiperproliferación y la formación de tumores.⁵

El cáncer de mama es la causa principal de mortalidad por cáncer en mujeres.⁶ El diagnóstico y tratamiento de la enfermedad depende de su detección precoz junto con una estrategia de tratamiento adecuada basada en factores pronósticos y predictivos.^{7,8} En 1973 se identificó la capacidad del ER para indicar el pronóstico en el cáncer de mama y su valor a la hora de predecir la respuesta al tratamiento endocrino se evaluó mediante una cohorte muy amplia en 1986.^{9,10} Desde entonces, el ER se ha convertido en un modelo de marcador tumoral que sirve para el control de pacientes con cáncer de mama. La presencia de una elevada concentración del ER en el tumor mamario está relacionada con una respuesta más eficaz a la terapia endocrina.^{7,8} El conocimiento del estado del ER desempeña un papel importante en la elección del tratamiento para la paciente, pero no puede ser el único factor que se tenga en cuenta.^{7,8} Varios estudios han demostrado que la presencia del ER está asociada a un pronóstico favorable a largo plazo.^{10,11}

Las directrices clínicas y las pautas de las prácticas recomendadas indican que el estado del ER se debe evaluar en todos los casos de cáncer de mama primario invasivo para

identificar a las pacientes que tienen más probabilidades de responder a los tratamientos de tipo endocrino.^{7,8} Los moduladores selectivos del receptor de estrógeno bloquean el crecimiento del cáncer inducido por el estrógeno moderando la hiperactividad del ER y se utilizan en terapias endocrinas (hormonales) en pacientes que presentan una sobreexpresión del receptor.^{8,12} En la actualidad, la primera opción de tratamiento para los carcinomas positivos en el ER es el tamoxifeno.^{7,8}

Las directrices y las pautas de las prácticas recomendadas hacen hincapié en que el método preferible para detectar el ER en el cáncer de mama es la inmunohistoquímica (IHC).¹³ Los estudios de amplias cohortes de casos de cáncer de mama invasivos concluyen que el clon anti-ER SP1 ofrece mayor sensibilidad para la detección del ER que los clones monoclonales de ratón 1D5 y 6F11.^{14,15} La detección mediante IHC del ER con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) puede servir como ayuda en el control, el pronóstico y la predicción de la terapia hormonal en el tratamiento del carcinoma de mama.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se une al ER en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE). El anticuerpo específico se puede localizar mediante una formulación de anticuerpo secundario conjugado con biotina que detecte inmunoglobulinas de conejo, seguida de la incorporación de un conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) estreptavidina (VIEW DAB Detection Kit) o mediante un conjugado de anticuerpo secundario y peroxidasa de rábano (HRP) (*ultraView* Universal DAB Detection Kit). El complejo anticuerpo-enzima específico se puede visualizar a través del precipitado del producto de la reacción enzimática. Los casos clínicos se deberían evaluar dentro del contexto del rendimiento de los controles correspondientes. Ventana recomienda la incorporación de un control de tejido positivo fijado y procesado con el mismo método que la muestra de la paciente (por ejemplo, un carcinoma de mama o de útero positivo débil). Además de la tinción con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1), se debe teñir un segundo portaobjetos con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Para que la prueba tenga validez, el tejido de control positivo debe presentar tinción nuclear de las células tumorales o de las glándulas uterinas y el estroma. Todos estos componentes deben dar resultado negativo en la tinción con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Además, se recomienda incluir un portaobjetos de control tisular negativo (como un carcinoma de mama negativo en el ER) en cada lote de muestras que se procesen y se analicen en el instrumento BenchMark IHC/ISH. Este control tisular negativo debería teñirse con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) para garantizar que la ampliación del antígeno y el resto de procedimientos previos al tratamiento no generan falsos positivos en las tinciones.

MATERIAL SUMINISTRADO

El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) (n.º cat. 790-4324) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL de anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) contiene aproximadamente 5 µg de anticuerpo monoclonal de conejo dirigido contra el antígeno ER humano.

El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) (n.º cat. 790-4325) contiene reactivo suficiente para 250 pruebas.

Un dispensador de 25 mL de anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) contiene aproximadamente 25 µg de anticuerpo monoclonal de conejo dirigido contra el antígeno ER humano.

El anticuerpo se diluye en un tampón formado por Tris-HCl con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante. Existen trazas (~ 0.2 %) de suero bovino fetal con origen en Estados Unidos de la solución de partida.

La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 1 µg/mL. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) es un anticuerpo monoclonal de conejo producido como sobrenadante de cultivo celular.

Consulte en la hoja de datos correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Material y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (n.º cat. 760-1029 / 05266238001)
4. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001)
5. *VIEW* DAB Detection Kit (n.º cat. 760-091 / 05266157001)
6. A/B Block (Endogenous Biotin Blocking Kit) (n.º cat. 760-050 / 05266092001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
15. Instrumento BenchMark IHC/ISH
16. Equipo de laboratorio de uso general

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvase entre 2 y 8 °C. No lo congele.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpos tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. Para procesar las muestras, se recomienda seguir los pasos que aparecen a continuación:¹⁶

1. Coloque la muestra en formol tamponado neutro al 10 %. La cantidad usada es de entre 15 y 20 veces el volumen de tejido. Ningún fijador se infiltrará en tejido sólido de más de 2 o 3 mm ni en tejido poroso de 5 mm durante un periodo de 24 horas. Las secciones de tejido de 3 mm o de tamaño inferior deben fijarse durante al menos 4 horas y un máximo de 8 horas. La fijación se puede llevar a cabo a temperatura ambiente (entre 15-25 °C).
2. Después de la fijación, la muestra debe colocarse en un instrumento de procesamiento de tejidos para prepararla durante la noche. En resumen, el proceso consiste en deshidratar la muestra con alcoholes y, a continuación, eliminar estos mediante reactivos de aclarado para finalmente llevar a cabo la infiltración con parafina.
3. Las muestras se embeben con parafina en casetes de tejido y se cortan secciones de aproximadamente 4 µm de grosor que se centran y se recogen en portaobjetos de vidrio. Los portaobjetos deberán ser del tipo Superfrost Plus o equivalente. El tejido deberá dejarse secar al aire colocando los portaobjetos a temperatura ambiente durante la noche o en un horno a 60 °C durante 30 minutos.

Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo.

Se recomienda que los controles de tejido positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.


ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel.

6. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
7. Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
8. Este producto contiene un 1 % de suero bovino o una cantidad menor, que se utiliza en la producción del anticuerpo.
9. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{17,18}
10. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
11. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
12. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios que puede encontrar en dialog.roche.com.
13. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
14. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
15. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información sobre riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P261	Evite inhalar la niebla o los vapores.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Este producto contiene CAS n.º 55965-84-9, una masa de reacción de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte Tabla 2 y Tabla 3 para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos. Consulte la hoja de datos del kit de detección de VENTANA para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica (IHC).

Para obtener más información sobre el uso correcto de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociado con P/N 790-4324 o P/N 790-4325.

La verificación y validación de los procedimientos de tinción recomendados en cada kit de detección se demuestran mediante pruebas de control de diseño y resultados de estudios clínicos.

Cualquier modificación que se realice en los procedimientos de tinción recomendados anulará las características de rendimiento que se suministran en esta hoja de datos. El usuario deberá hacerse responsable de las modificaciones que realice en el procedimiento de tinción recomendado.

Tabla 2. Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) con *ultraView* Universal DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método	
	XT	ULTRA o ULTRA PLUS
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, Estándar	ULTRA CC1, Estándar
Anticuerpo (Primario)	16 minutos, 37 °C	16 minutos, 36 °C
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos	Hematoxylin II, 4 minutos
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos	Bluing, 4 minutos

Tabla 3. Protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) con *VIEW* DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método	
	XT	ULTRA
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, Estándar	ULTRA CC1, Estándar
Anticuerpo (Primario)	16 minutos, 37 °C	16 minutos, 36 °C
Bloque A/B (Bloqueador de biotina)	Necesario	Necesario
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos	Hematoxylin II, 4 minutos
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos	Bluing, 4 minutos

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, el acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del lector. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances».¹⁹

CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

Se debe incluir un control de tejido positivo en cada sesión de tinción. El College of American Pathologists recomienda que el control de tejido positivo se encuentre en el portaobjetos de la paciente.¹³ Como ejemplo de control de tejido positivo para el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se encuentra el carcinoma de mama positivo débil. Las células o componentes de tejido con tinción positiva (tinción nuclear de células tumorales) se utilizan para confirmar que el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se ha aplicado y que el instrumento ha funcionado correctamente. El tejido de control puede contener células o elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como tejidos de control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una muestra extraída recientemente de autopsia, biopsia o cirugía, preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba. Estos tejidos se

utilizarán para hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el proceso, desde la preparación del tejido hasta la tinción. El uso de una sección de tejido fijada o procesada de forma diferente a la muestra de la prueba actuará como control en todos los pasos de reactivo y del método, salvo en los de fijación y procesamiento de tejidos.

Para conseguir un control de calidad óptimo y detectar niveles sin importancia de degradación del reactivo es más recomendable utilizar un tejido con tinción positiva débil que uno con tinción positiva fuerte. La opción más idónea es elegir un tejido de carcinoma de mama, que se caracteriza por una tinción débil pero positiva, para garantizar que el sistema es sensible a pequeños niveles de degradación de reactivos o a problemas con la metodología IHC.

Si no es posible, se puede utilizar endometrio proliferativo normal humano como control positivo. Los componentes de tinción positiva son la tinción nuclear de epitelios glandulares y células estromales y de músculo liso. Es posible, no obstante, que la tinción del tejido endometrial no sea lo suficientemente débil para detectar niveles bajos de degradación de los reactivos o problemas con la metodología IHC.

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado para el control de calidad.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos de la prueba y los tejidos procesados y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

CONTROL TISULAR NEGATIVO

Con un control tisular que se haya fijado, procesado y embebido de la misma forma que las muestras de la paciente se puede verificar en cada sesión de tinción la especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) para detectar ER, así como proporcionar una indicación sobre una tinción de fondo específica (falsos positivos en la tinción). Además, incluir una variedad de tipos de células diferentes en la mayor parte de las secciones de tejido puede servir como control negativo para comprobar las especificaciones de rendimiento del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1). Por ejemplo, el mismo tejido (endometrio) que se utiliza como control de tejido positivo puede servir como control de tejido negativo. Los componentes que no van a tener tinción, como el citoplasma y la membrana celular, deberían mostrar la ausencia de una tinción específica en aquellas células que no está previsto que se tiñan, facilitando una indicación sobre la tinción de fondo específica. El control de tejido negativo también puede servir de ayuda en la interpretación de los resultados. La variedad de los diferentes tipos de células presentes en la mayor parte de las secciones de tejido suele ofrecer puntos de control negativo, pero es necesaria su comprobación por parte del usuario. Si se presenta una tinción específica en los puntos de control tisular negativo, deberán considerarse no válidos los resultados en la muestra del paciente.

CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Se debe utilizar el control de reactivo negativo de cada muestra en cada sesión como ayuda para la interpretación de los resultados. El control de reactivo negativo se utiliza en lugar del anticuerpo primario para evaluar la tinción no específica y permitir que se interprete de forma más precisa la tinción específica en el sitio del antígeno. Todo ello indica la tinción de fondo no específica en cada portaobjetos. En lugar del anticuerpo primario, tiña el portaobjetos con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, un IgG purificado de conejo no inmune que no reacciona con muestras humanas. Si se utiliza un control de reactivo negativo diferente, dilúyalo con Antibody Diluent en la misma proporción de dilución que el antisuero del anticuerpo primario. En el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) existe una retención de aproximadamente el 0.2 % de suero bovino fetal. También se considera adecuada la incorporación de un 0.2 % de suero bovino fetal a Antibody Diluent para usarlo como control de reactivo negativo no específico. El periodo de incubación del control de reactivo negativo debe ser idéntico al del anticuerpo primario. Cuando se utilizan paneles de varios anticuerpos en secciones en serie, la presencia de un control de reactivo negativo en un portaobjetos puede servir como control de fondo de unión no específica o negativa de otros anticuerpos.

VERIFICACIÓN DEL ENSAYO

Antes de usar por primera vez el anticuerpo en un procedimiento diagnóstico, o ante un cambio de lote, es necesario comprobar la especificidad del anticuerpo llevando a cabo una tinción de varios tejidos negativos y positivos cuyas características de rendimiento se conocen de antemano. Consulte los procedimientos de control de calidad que se han

mencionado previamente en esta sección del prospecto y las recomendaciones de control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist o CLSI Approved Guideline o todos ellos.^{20,21} Estos procedimientos de control de calidad deberían repetirse cada vez que se utilice un lote de anticuerpo nuevo, cuando se cambie el número de lote de uno de los reactivos del conjunto correspondiente o se modifiquen los parámetros del ensayo. El control de calidad no se puede llevar a cabo de forma significativa en un reactivo independiente de manera aislada, ya que los reactivos correspondientes, así como el protocolo del ensayo, se deben probar al mismo tiempo antes de utilizar un kit con fines de diagnóstico. Los tejidos que se enumeran en el Resumen de resultados previstos son aptos para llevar a cabo la verificación del ensayo.

Es necesario llevar a cabo todos los procedimientos de control de calidad de acuerdo con las normativas locales, estatales y federales o con los criterios de acreditación.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El procedimiento de inmunotinción automatizada VENTANA provoca que un producto de reacción con color se precipite en los puntos del antígeno que localiza el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1). Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles positivos y negativos y calificar el producto con tinción antes de interpretar los resultados. El estado del receptor de estrógeno se determina mediante el porcentaje de células tumorales con tinción. Para considerar que el resultado de un caso es positivo en ER, debe observarse una tinción en el núcleo de las células tumorales igual o superior al 1%.¹³ Es posible que haya presencia de tinción específica en el estroma y los linfocitos. Al evaluar estos portaobjetos es indispensable tener en cuenta únicamente la tinción nuclear que presentan las células tumorales.

Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) debería estudiarse primero para comprobar que los reactivos funcionan correctamente. La existencia de un producto de reacción marrón (3,3' tetracloruro de diaminobencidina, DAB) en los núcleos de las células diana indica una reactividad positiva. Como ejemplo de tejidos que pueden servir como control positivo se encuentra el carcinoma de mama positivo débil conocido, es decir, el tejido en el que $\geq 1\%$ de los núcleos de las células tumorales presenten una tinción positiva. También es posible utilizar el endometrio humano normal. En el caso del endometrio normal, la tinción del ER se observa en los núcleos de las glándulas y el estroma endometriales. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva adecuada, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Control tisular negativo

El control tisular negativo se debe estudiar después del control de tejido positivo para comprobar el etiquetado específico del antígeno diana mediante el anticuerpo primario. La ausencia de una tinción específica en el control de tejido negativo confirma la falta de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. El carcinoma de mama que se utiliza como control positivo también puede servir como tejido de control negativo. Ciertos elementos estromales, como las células endoteliales, cuya tinción negativa en el ER se ha demostrado, no deberían presentar tinción nuclear. Si se presenta una tinción específica en el control tisular negativo, deberán considerarse no válidos los resultados en la muestra del paciente.

De presentarse tinción no específica, tendrá una apariencia difusa. También es posible observar una ligera tinción esporádica en el tejido conjuntivo en aquellas secciones de tejido que se han fijado excesivamente con formol. Se deben utilizar células intactas para la interpretación de los resultados de tinción, ya que en las células necróticas o degeneradas se suele observar una tinción no específica.²²

Tejido del paciente

La tinción de muestras del paciente con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se debe estudiar en último lugar. La intensidad de la tinción positiva deberá evaluarse en contexto junto con la tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Es posible detectar ER entre otras neoplasias, como en el cáncer de ovario y de endometrio.¹³ La morfología de cada muestra de tejido también se deberá estudiar a través de una sección con tinción de hematoxilina y eosina cuando se esté interpretando cualquier resultado de inmunohistoquímica. La interpretación de las conclusiones morfológicas del paciente y los datos clínicos pertinentes deben dejarse en manos de un anatomopatólogo cualificado. Para obtener más información sobre la inmunoreactividad, consulte las secciones Resumen y explicación, Limitaciones y Resumen de los resultados previstos.

LIMITACIONES

Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica (IHC) es un proceso de diagnóstico que comprende varios pasos y requiere una formación especializada en cuanto a la correcta elección de los tejidos y los reactivos, la fijación, el procesamiento, la preparación de portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
2. La tinción del tejido depende del manejo y el procesamiento del tejido antes de llevar a cabo la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento y seccionado incorrectos o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede provocar la aparición de artefactos, el enmascaramiento de anticuerpos o resultados falsos negativos. La existencia de resultados incoherentes puede ser consecuencia de la introducción de variaciones en los métodos de fijación e inclusión o puede derivarse de las irregularidades características del tejido.
3. Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en riesgo la interpretación correcta de los resultados.
4. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva, al igual que su ausencia, es algo que se debe evaluar en función del contexto del historial médico, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de todas las tinciones, o la ausencia de estas, se debe complementar con los estudios morfológicos y los controles correspondientes, así como con otras pruebas diagnósticas. Está previsto que este anticuerpo se use en un panel de anticuerpos. Es responsabilidad del anatomopatólogo cualificado estar familiarizado con los anticuerpos, los reactivos y los métodos que se utilizan para preparar la tinción. La tinción se debe llevar a cabo en un laboratorio certificado y con licencia y bajo la supervisión de un anatomopatólogo, que será el responsable de revisar los portaobjetos teñidos y de garantizar la idoneidad de los controles positivos y negativos.
5. Ventana proporciona anticuerpos y reactivos con una dilución óptima para su uso siempre que se respeten las instrucciones que se suministran. Cualquier diferencia en la forma de llevar a cabo los procedimientos de prueba recomendados pueden invalidar los resultados previstos. Deben emplearse los controles adecuados y documentarlos. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados de la paciente.
6. Este producto no se ha concebido para su uso en citometría de flujo; sus características de rendimiento no se han definido.
7. Los reactivos pueden mostrar reacciones imprevistas en tejidos que no se hayan probado previamente. Existe la posibilidad, aunque sea remota, de encontrarse con reacciones no previstas incluso en los grupos de tejidos probados no se puede eliminar por completo, dada la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos anatomopatológicos.²² Póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche si cuenta con reacciones imprevistas documentadas.
8. En los tejidos de pacientes contagiados con el virus de la hepatitis B o que contienen antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) es posible que se presente una tinción no específica con la peroxidasa de rábano.²³
9. Cuando se utilizan en los pasos de bloqueo, el suero normal de la misma fuente animal que el antisuero secundario pueden dar lugar a resultados de tinción falsos positivos o falsos negativos debido a la existencia de autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
10. Los resultados falsos positivos se pueden observar por la unión de proteínas no inmunológicas o por los productos de reacción con sustratos. También es posible que aparezcan como consecuencia de la actividad pseudoperoxidasa (eritrocitos), de la actividad peroxidasa endógena (citocromo C) o de la biotina endógena (como en el caso del hígado, del cerebro, de la mama o del riñón) en función del tipo de inmunotinción que se haya utilizado.²⁴
11. Como ocurre en todas las pruebas de IHC, un resultado negativo significa que no se ha detectado el antígeno, no necesariamente que este no esté presente en las células o en el tejido que se ha usado para el ensayo.

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

1. El anticuerpo, cuando se utiliza junto con los kit de detección y los accesorios VENTANA, detecta el antígeno que permanece una vez se han llevado a cabo la fijación en formol, el procesamiento del tejido y el corte. Los usuarios que no sigan

- los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.
- Un resultado negativo con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) no descarta la presencia de ER. Las reacciones negativas en los carcinomas de mama pueden ser consecuencia de la pérdida de la expresión del antígeno o de una marcada reducción de esta. Se recomienda, por tanto, que se utilice el anticuerpo como parte de un panel que incluya el receptor de progesterona.
 - Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

Sensibilidad y especificidad

La inmunorreactividad del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se determinó mediante la tinción de varios casos de tejidos humanos normales. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se determinó analizando tejidos normales FFPE.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Cerebro	0/5	Esófago	0/3
Cerebelo	0/3	Estómago	0/3
Glándula suprarrenal	0/3	Intestino delgado	0/3
Ovario	1/3	Colon	0/3
Páncreas	0/3	Hígado	0/3
Glándula paratiroidea	0/4	Glándula salival	0/3
Glándula pituitaria	3/3	Riñón	0/3
Testículos	0/3	Próstata	2/3
Tiroides	1/5	Vejiga	0/5
Mama ^a	12/12	Endometrio	3/3
Bazo	0/3	Cuello del útero	1/3
Amígdala	1/3	Músculo esquelético	0/3
Timo	0/3	Piel ^b	0/5
Médula ósea	0/3	Nervio	0/3
Pulmón	0/3	Mesotelio	0/3
Corazón	0/3		

^a Entre los tejidos había tejido fibroadiposo.

^b En los tejidos se encontraba tejido de pezón.

La inmunorreactividad del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se determinó mediante la tinción de varios casos de tejidos humanos neoplásicos. Los casos se consideraban positivos en ER cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, $\geq 1\%$ de las células tumorales invasivas.¹³ Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos FFPE.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma (cerebro)	0/1
Meningioma (cerebro)	0/1
Ependimoma (cerebro)	0/1
Oligodendroglioma (cerebelo)	0/1
Adenocarcinoma seroso (ovario)	0/1
Adenocarcinoma mucinoso (ovario)	0/1
Neoplasia neuroendocrina (páncreas)	0/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1
Seminoma (testículos)	0/1
Carcinoma embrionario (testículos)	0/1
Carcinoma medular (tiroides)	0/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal in situ (mama)	1/3
Carcinoma ductal invasivo (mama)	9/20
Carcinoma lobulillar invasivo (mama)	2/3
Carcinoma medular (mama)	0/1
Carcinoma papilar (mama)	1/1
Carcinoma de mama (metastásico)	0/5
Linfoma de linfocitos B; sin especificar (bazo)	0/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (pulmón)	0/1
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	0/1
Adenocarcinoma mucinoso (estómago)	0/1
Adenocarcinoma (intestino)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (intestino)	0/1
Adenocarcinoma (colon)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (colon)	0/1
Adenocarcinoma (recto)	0/1
Neoplasia maligna mesenquimatosa mixta (recto)	0/1
Melanoma (recto)	0/1
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/1
Hepatoblastoma (hígado)	0/1
Carcinoma de células claras (riñón)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	1/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Carcinoma urotelial (uretra prostática)	1/1
Leiomioma (útero)	1/1
Adenocarcinoma (útero)	2/2
Carcinoma de células claras (útero)	0/1
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	0/1
Rabdomiosarcoma embrionario (músculo estriado)	0/1
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Carcinoma de células escamosas (músculo estriado)	0/1
Neurofibroma (mediastino)	0/1
Neuroblastoma (retroperitoneo)	0/1
Rabdomiosarcoma de células fusiformes (retroperitoneo)	0/1
Mesotelioma (peritoneo)	0/1
Linfoma de Hodgkin (ganglio linfático)	0/1
Linfoma, sin especificar (ganglio linfático)	0/2
Linfoma de linfocitos B, sin especificar (ganglio linfático)	0/1
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/1
Osteosarcoma (hueso)	0/1
Leiomiomasarcoma (músculo liso)	0/1

La sensibilidad depende de la conservación del antígeno. El manejo incorrecto del tejido durante el fijado, el corte, la inclusión o el almacenamiento puede modificar la antigenicidad y debilitar la capacidad de detección de ER que tiene el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1), lo que puede dar lugar a resultados falsos negativos.

Precisión de los instrumentos BenchMark XT y BenchMark ULTRA

Para llevar a cabo la prueba de precisión, se realizó la tinción de seis casos de tejidos independientes. De los seis tejidos, dos presentaban una elevada expresión de ER; en dos se observaba una expresión reducida de ER y los otros dos daban resultado negativo en ER en función de la siguiente línea de corte: resultado negativo si existía una tinción de células tumorales < 1 %; expresión reducida si el valor se encontraba entre 1 y 10 % y elevada si el valor era > 10 %.

Para llevar a cabo la prueba de repetibilidad dentro del análisis, se realizó la tinción de nueve portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) y un portaobjetos de cada caso se tiñó con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig en un instrumento BenchMark XT. Esta misma configuración se utilizó también en el instrumento BenchMark ULTRA. La repetibilidad dentro del análisis del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en los instrumentos BenchMark XT y BenchMark ULTRA concordaba al 100 % en todos los tejidos positivos de los seis casos. Los portaobjetos con tinción de CONFIRM Negative Control Rabbit Ig se consideraron aceptables en cuanto a señal y fondo.

Para llevar a cabo la prueba de precisión intermedia entre días, se realizó la tinción de cuatro portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) y un portaobjetos de cada caso se tiñó con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig en cinco sesiones independientes no consecutivas ejecutadas en un periodo de 20 días en el mismo instrumento BenchMark XT. Esta misma configuración se utilizó también en el instrumento BenchMark ULTRA. La precisión intermedia entre días del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en los instrumentos BenchMark XT y BenchMark ULTRA concordaba al 100 % en todos los tejidos positivos de los seis casos. Los portaobjetos con tinción de CONFIRM Negative Control Rabbit Ig se consideraron aceptables en cuanto a señal y fondo.

Para llevar a cabo la prueba de precisión intermedia entre instrumentos BenchMark XT, se realizó la tinción de cuatro portaobjetos de seis casos con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en tres instrumentos BenchMark XT independientes. Se tiñó un solo portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. La precisión intermedia entre instrumentos del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en los tres instrumentos BenchMark XT concordaba al 100 % en los seis casos. Los portaobjetos con tinción de CONFIRM Negative Control Rabbit Ig se consideraron aceptables en cuanto a señal y fondo.

Para llevar a cabo la prueba de precisión intermedia entre instrumentos BenchMark ULTRA, se realizó la tinción de cuatro portaobjetos de seis casos con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en tres instrumentos BenchMark ULTRA independientes. Se tiñó un solo portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. La precisión intermedia entre instrumentos del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en los tres instrumentos BenchMark ULTRA concordaba al 100 % en los seis casos. Los portaobjetos con tinción de CONFIRM Negative Control Rabbit Ig se consideraron aceptables en cuanto a señal y fondo.

Precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS

Para llevar a cabo la prueba de precisión, se realizó la tinción de nueve casos de tejidos independientes. De los nueve tejidos, tres presentaban una elevada expresión de ER; en tres se observaba una expresión reducida de ER y los otros tres daban resultado negativo en ER en función de la siguiente línea de corte: resultado negativo si existía una tinción de células tumorales < 1 %; expresión reducida si el valor se encontraba entre 1-10 %; y elevada si el valor era > 10 %.

Para llevar a cabo la prueba de repetibilidad dentro del análisis, se realizó la tinción de cinco portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) y un portaobjetos de cada caso se tiñó con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig en un instrumento BenchMark ULTRA PLUS. La concordancia de la repetibilidad dentro del análisis del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS fue del 100 %. Los portaobjetos con tinción de CONFIRM Negative Control Rabbit Ig se consideraron aceptables en cuanto a señal y fondo.

Para llevar a cabo la prueba de precisión intermedia entre días, se realizó la tinción de dos portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) y un portaobjetos de cada caso se tiñó con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig en cinco sesiones independientes no consecutivas ejecutadas en un periodo de 20 días en el mismo instrumento BenchMark ULTRA PLUS. La precisión intermedia entre días del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS concordaba al 100 %. Los portaobjetos con tinción de CONFIRM Negative Control Rabbit Ig se consideraron aceptables en cuanto a señal y fondo.

Para llevar a cabo la prueba de precisión intermedia entre instrumentos BenchMark ULTRA PLUS, se realizó la tinción de dos portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en tres instrumentos BenchMark ULTRA PLUS independientes. Se tiñó un solo portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. La precisión intermedia entre instrumentos del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en los tres instrumentos BenchMark ULTRA PLUS era del 100 %.

Reproducibilidad entre laboratorios

Se llevó a cabo un estudio de reproducibilidad entre laboratorios con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) con una sesión de 14 portaobjetos de cáncer de mama (8 positivos, 2 con positividad reducida y 4 negativos) en 3 instrumentos BenchMark XT y 3 instrumentos BenchMark ULTRA, con detección *VIEW* DAB y detección *ultraView* DAB en cada uno de los 5 días no consecutivos durante un periodo mínimo de 20 días en 3 laboratorios externos. Las muestras se asignaron de forma aleatorizada y fueron evaluadas por 6 anatomopatólogos (2 por cada centro) para obtener el porcentaje de células tumorales con tinción. Un caso se consideraba positivo en ER cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, un 1 % de las células tumorales invasivas.¹³

En cuanto a la precisión entre sitios, los porcentajes del promedio de concordancia positiva (APA) y del promedio de concordancia negativa (ANA) en la evaluación clínica del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) fueron del 94.3 % y 87.9 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *VIEW*; del 94.2 % y 85.8 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *ultraView*; del 95.6 % y del 90.9 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *VIEW*; y del 94.2 % y 85.3 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante el *ultraView*.

En cuanto a la precisión entre días, los porcentajes de APA y ANA en la evaluación clínica del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) fueron del 97.9 % y 95.5 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *VIEW*;

del 98.4 % y 96.2 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *ultraView*; del 98.0 % y 95.9 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *VIEW*; y del 98.2 % y 95.5 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *ultraView*.

En cuanto a la precisión entre lectores, los porcentajes de APA y ANA en la evaluación clínica del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) fueron del 95.7 % y 90.9 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *VIEW*; del 94.1 % y 85.7 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *ultraView*; del 94.9 % y 89.6 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *VIEW*; y del 93.4 % y 83.6 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *ultraView*.

En cuanto a la precisión entre plataformas en los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark XT, los porcentajes de APA y ANA fueron del 97.8 % y 95.5 %, respectivamente, con detección de *VIEW* y del 98.9 % y 97.4 %, respectivamente, con detección de *ultraView*.

Con respecto a la precisión dentro de la misma plataforma, los porcentajes de APA y ANA fueron del 97.9% y 95.2%, respectivamente, con el instrumento BenchMark ULTRA; y del 97.8% y 95.0%, respectivamente, en el caso del instrumento BenchMark XT.

Comparativa entre *VIEW DAB Detection Kit* y *ultraView Universal DAB Detection Kit* con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1)

El anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) se utilizó para llevar a cabo una prueba comparativa de detección entre dos instrumentos (BenchMark XT y BenchMark ULTRA) con *VIEW DAB Detection Kit* y *ultraView Universal DAB Detection Kit*. La prueba se realizó con ciento noventa y nueve (199) casos de tejido. De los casos que se analizaron se pudo determinar, mediante el instrumento BenchMark ULTRA, que 111 eran positivos y 83 negativos en función del porcentaje de células tumorales que presentaba tinción. Los anatomopatólogos evaluaron los portaobjetos con tinción y determinaron el porcentaje de células tumorales teñidas. Un caso se consideraba positivo en ER cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, un 1 % de las células tumorales.

Los índices de aceptabilidad de la morfología y del fondo fueron del 100 % tanto en los kit de detección como en los instrumentos. Las comparaciones directas de las evaluaciones clínicas positivas y negativas entre los kit de detección en cada uno de los instrumentos se muestran en la Tabla 6, en el caso del instrumento BenchMark ULTRA, y en la Tabla 7, en el caso del instrumento BenchMark XT.

Tabla 6. Evaluación de *ultraView Universal DAB Detection Kit* frente a *VIEW DAB Detection Kit* en el instrumento BenchMark ULTRA.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	108	3	111
Negativa	3	80	83
Total	111	83	194
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	108/111	97.3 (92.4-99.1)	
Porcentaje de concordancia negativa	80/83	96.4 (89.9-98.8)	
Porcentaje de concordancia global	188/194	96.6 (93.4-98.6)	

Tabla 7. Evaluación de *ultraView Universal DAB Detection Kit* frente a *VIEW DAB Detection Kit* en el instrumento BenchMark XT.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	106	5	111
Negativa	2	79	81
Total	108	84	192

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Positiva	Negativa	Total
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	106/108	98.1 (93.5-99.5)	
Porcentaje de concordancia negativa	79/84	94.0 (86.8-97.4)	
Porcentaje de concordancia global	185/192	96.4 (92.7-98.2)	

La concordancia global de la evaluación entre los kit de detección en ambas plataformas fue del 96.9 % (n = 194) y del 96.4 % (n = 192) en el caso de los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark XT, respectivamente. *ultraView Universal DAB Detection Kit*, en comparación con el *VIEW DAB Detection Kit*, obtuvo un índice de concordancia en la puntuación de la tinción del 93.3 % (n = 194) y del 93.8 % (n = 192).

Comparación del instrumento BenchMark XT frente al instrumento BenchMark ULTRA

Se llevó a cabo un estudio aleatorizado en diferentes centros y con varios lectores para comparar el rendimiento de tinción del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en el instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark XT. El rango clínico del ensayo estaba representado por ciento veinte (20) casos de cáncer de mama negativos en ER y 132 casos positivos en ER, que se asignaron aleatoriamente a los tres centros que llevarían a cabo el estudio, de forma que cada uno de ellos recibiese la misma cantidad de casos y que los casos representasen cada una de las categorías de evaluación clínica. Cada centro se ocupó de realizar la tinción de los casos asignados con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en un instrumento BenchMark ULTRA y en un instrumento BenchMark XT con el anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1). Los anatomopatólogos evaluaron los portaobjetos con tinción y determinaron el porcentaje de células tumorales teñidas. Un caso se consideraba positivo en ER cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, ≥ 1 % de las células tumorales invasivas.¹³

Tabla 8. Anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en un instrumento BenchMark ULTRA y anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en un instrumento BenchMark XT.

Instrumento BenchMark XT	Instrumento BenchMark ULTRA		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	99	8	107
Negativa	11	91	102
Total	110	99	209
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	99/107	92.5 (85.9-96.2)	
Porcentaje de concordancia negativa	91/102	89.2 (81.7-93.9)	
Porcentaje de concordancia global	190/209	90.9 (86.2-94.1)	

El índice de aceptabilidad de la morfología en todos los portaobjetos con tinción del estudio fue del 100 % (C.I. del 95 %: 98.5 %-100 %) en el caso del instrumento BenchMark ULTRA y del 94.0 % (C.I. del 95 %: 90.4 %-96.4 %) en el del instrumento BenchMark XT. El índice de aceptabilidad del fondo fue del 94.8% (C.I. del 95 %: 91.4 %-97.0 %) en el caso del instrumento BenchMark ULTRA y del 90.9 % (C.I. del 95 %: 86.7 %-93.8 %) en el del instrumento BenchMark XT.

Comparación del instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark ULTRA PLUS

Se llevó a cabo un estudio para comparar el rendimiento de tinción del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS frente al instrumento BenchMark ULTRA. Se tiñeron ciento veinte (20) casos de tejido de carcinoma de mama (54 positivos en ER, 54 casos negativos en ER y 12 casos en el

límite de positividad en ER) que reflejaban el rango clínico del ensayo. Los anatomopatólogos evaluaron los portaobjetos con tinción y determinaron el porcentaje de células tumorales teñidas. Los casos se consideraban positivos en ER cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, $\geq 1\%$ de las células tumorales invasivas.¹³ Los índices de concordancia entre los casos teñidos con cada instrumento se recogen en la Tabla 9.

Tabla 9. Anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en un instrumento BenchMark ULTRA PLUS y anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) en un instrumento BenchMark ULTRA (sin incluir los casos en el límite de la positividad).

Instrumento BenchMark ULTRA PLUS	Instrumento BenchMark ULTRA		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	53	0	53
Negativa	0	53	53
Total	53	53	106
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	53/53	100.0 (93.2-100.0)	
Porcentaje de concordancia negativa	53/53	100.0 (93.2-100.0)	
Porcentaje de concordancia global	106/106	100.0 (96.5-100.0)	

El índice de aceptabilidad de la morfología en todos los portaobjetos con tinción del estudio fue del 99.2% (C.I. del 95 % 95.4%-99.9%) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS. El índice de aceptabilidad del fondo fue del 100.0 % (C.I. del 95 % 96.8%-100.0 %) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS.

RENDIMIENTO CLÍNICO

Comparativa entre los resultados de pacientes

Se llevó a cabo un estudio aleatorizado, en un solo centro y con lector múltiple, con muestras de 511 casos de cáncer de mama invasivo recogidos en una cohorte clínica de 820 pacientes de cáncer de mama invasivo. Los resultados de la supervivencia libre de progresión se compararon en el caso de las pacientes en las que se había determinado un estado diferente del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) mediante el instrumento BenchMark ULTRA. Se incorporaron en los análisis los casos en los que la paciente contaba con un diagnóstico de carcinoma de mama invasivo confirmado y recibía tratamiento con una intervención quirúrgica primaria, con o sin tratamiento de radioterapia local postoperatorio, seguido por una terapia endocrina adyuvante con tamoxifeno (20 mg por vía oral al día) durante 5 años. Se excluyeron de los análisis los casos en los que no se encontraban disponibles las muestras de tejido de biopsias diagnósticas o de intervenciones quirúrgicas primarias, los casos en los que hubiera un diagnóstico de cáncer previo (salvo de cáncer de piel sin melanoma) o aquellos en los que la paciente hubiera recibido tratamiento de quimioterapia adyuvante o previo. Se realizó la tinción de un total de 1907 núcleos de micromatrices de tejido con tumor primario en el instrumento BenchMark ULTRA. Tres anatomopatólogos independientes evaluaron los portaobjetos con tinción y determinaron el porcentaje de células tumorales teñidas. Un caso se consideraba positivo en ER cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, $\geq 1\%$ de las células tumorales invasivas.¹³

En el estudio se encontraron 441 pacientes con estado positivo en Ventana ER (ER+) y 18 pacientes con estado negativo en Ventana ER (ER-). Un gráfico Kaplan-Meier de supervivencia determinado por el estado del anticuerpo CONFIRM anti-ER (SP1) entre la población del análisis primario de supervivencia mostraba una gran diferencia entre los casos Ventana ER+ y ER-. Las pacientes con ER+ experimentaron periodos de supervivencia más prolongados que las pacientes con ER- al administrar un tratamiento de tamoxifeno; la mediana del periodo de supervivencia para las pacientes con ER+ y ER- era de 101.6 y 47.2 meses respectivamente. La prueba de rango logarítmico mostraba que la diferencia en los gráficos de supervivencia era estadísticamente significativa ($P < 0.001$).

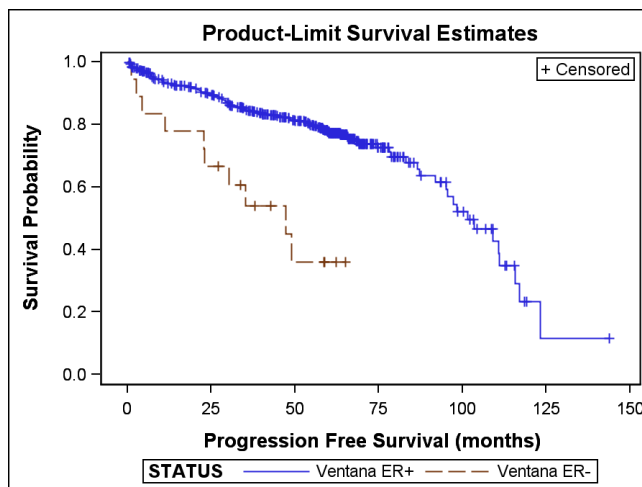


Figura 2. Gráfico Kaplan-Meier de supervivencia por estado Ventana ER.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo presenta una tinción más débil de lo previsto, compruebe el resto de los controles positivos que se han analizado de forma simultánea para establecer si el problema se debe al anticuerpo primario o a alguno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo es negativo, asegúrese de que el portaobjetos lleva la etiqueta de código de barras correcta. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, compruebe el resto de los controles positivos que se han analizado de forma simultánea para establecer si el problema se debe al anticuerpo primario o a alguno de los reactivos secundarios comunes. Es posible que los tejidos se hayan recogido, fijado o desparafinado de forma incorrecta. Siga el procedimiento apropiado para llevar a cabo la recogida, el almacenamiento y la fijación.
3. Si la tinción de fondo es excesiva, es posible que se observen niveles elevados de biotina endógena. Debería incorporarse un paso de bloqueo de la biotina.
4. Si no se ha eliminado toda la parafina, repita el proceso de desparafinado.
5. Si la tinción de anticuerpo específica es demasiado intensa, repita la sesión reduciendo el tiempo de incubación del anticuerpo primario en intervalos de 4 minutos para obtener la intensidad de tinción deseada.
6. Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, compruebe que los portaobjetos tienen carga positiva.
7. Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Procedimiento paso a paso del Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.

REFERENCIAS

1. Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen JA, et al. Estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids*. 2014;90:13-29.
2. Yasar P, Ayaz G, User SD, et al. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. *Reprod Med Biol*. 2017;16(1):4-20.
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. Diep CH, Ahrendt H, Lange CA. Progesterone induces progesterone receptor gene (PGR) expression via rapid activation of protein kinase pathways required for cooperative estrogen receptor alpha (ER) and progesterone receptor (PR) genomic action at ER/PR target genes. *Steroids*. 2016;114:48-58.
5. Carroll JS. Mechanisms of oestrogen receptor (ER) gene regulation in breast cancer. *Eur J Endocrinol*. 2016;175(1):R41-49.
6. Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(4):444-457.
7. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019.
8. 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.
9. McGuire WL. Estrogen receptors in human breast cancer. *J Clin Invest.* 1973;52(1):73-77.
 10. Vollenweider-Zerargui L, Barrelet L, Wong Y, et al. The predictive value of estrogen and progesterone receptors' concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women. *Clinical correlation on 547 patients. Cancer.* 1986;57(6):1171-1180.
 11. Cheang MC, Treaba DO, Speers CH, et al. Immunohistochemical Detection Using the New Rabbit Monoclonal Antibody SP1 of Estrogen Receptor in Breast Cancer Is Superior to Mouse Monoclonal Antibody 1D5 in Predicting Survival. *JCO.* 2006;24(36):5637-5644.
 12. Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. *Rev Endocr Metab Disord.* 2007;8(3):229-239.
 13. 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.
 14. Bae YK, Gong G, Kang J, et al. Hormone Receptor Expression in Invasive Breast Cancer Among Korean Women and Comparison of 3 Antiestrogen Receptor Antibodies - A Multi-institutional Retrospective Study Using Tissue Microarrays. *Am J Surg Pathol* 2012;36:1817-1825.
 15. Bogina G, Zamboni G, Sapino A, et al. Comparison of Anti-Estrogen Receptor Antibodies Sp1, 6f11, and 1d5 in Breast Cancer: Lower 1d5 Sensitivity but Questionable Clinical Implications. *Am J Clin Pathol.* 2012;138(5):697-702.
 16. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
 17. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). *Fed. Register.*
 18. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
 19. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
 20. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, *Anatomic Pathology Checklist*, 2010.
 21. 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.
 22. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem.* 1991;66(4):194-199.
 23. 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.
 24. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med.* 1983;14:767.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:

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

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte en dialog.roche.com la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificador único del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
G	Se han actualizado las secciones Advertencias y precauciones y Rendimiento de análisis.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView* y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

www.roche.com



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

