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

REF 790-2223 Σ 50

05277990001

REF 790-4296 Σ 250

05278392001

IVD

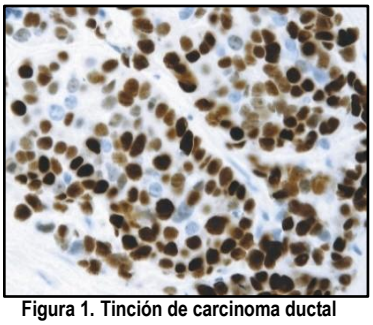

Figura 1. Tinción de carcinoma ductal de mama con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2).

USO PREVISTO

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody está destinado a su uso en laboratorio para la detección cualitativa del antígeno receptor de la progesterona (PR) en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina mediante el módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA con kits de detección VENTANA y sus reactivos auxiliares. El anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) se dirige contra un epítopo que se encuentra presente en la proteína del receptor de progesterona humano ubicada en el núcleo de células neoplásicas y normales con PR positivo. El anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2)) es un anticuerpo monoclonal de conejo que detecta las isoformas A y B del receptor de progesterona humano (PR). El inmunogen se ha desarrollado a partir de un péptido sintético identificado como un área de antigenicidad potencialmente alta común a las formas A y B del receptor de progesterona. El péptido se ha sintetizado y se ha unido de forma covalente con la hemocianina de lapa de ojo de cerradura para aumentar su antigenicidad. Se ha demostrado que el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) reacciona con las proteínas 60 kD, 87 kD y 110 kD de las células T47D mediante la técnica Western blotting. El tamaño de las proteínas concuerda con el peso molecular previsto de las formas A, B y C del receptor de progesterona.[1]

El PR es un receptor de hormonas nuclear codificado por un solo gen (PGR).[1,2] La actividad del PR se regula mediante el receptor de hormonas nuclear estrechamente asociado a él: el receptor de estrógeno (ER). Las acciones coordinadas del ER y PR estimulan el desarrollo normal de la glándula mamaria y son necesarias para la diferenciación y la proliferación en el epitelio adulto de mama.[1,2,3]

El cáncer de mama es la causa principal de muerte relacionada con el cáncer en mujeres.[4] El diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad se basa en la detección temprana acompañada de una estrategia fiable para estratificar a los pacientes en el tratamiento adecuado en función del pronóstico y factores predictivos.[5,6] La rutina de diagnóstico establecida del cáncer de mama es una combinación de exploración física, obtención de imágenes y evaluación anatomopatológica.[5]

El ER es uno de los marcadores tumorales modelo para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama. 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.[5,6] 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 en pacientes que presentan una sobreexpresión del receptor.[6,7]

En la práctica, casi la mitad de los pacientes con ER positivo no responden al tratamiento endocrino; un fenómeno vinculado a la transformación maligna del receptor en lesiones cancerosas.[8] La sobreexpresión del PR puede servir para caracterizar más detalladamente el tumor de mama y predecir la respuesta terapéutica al actuar como un indicador para evaluar el estado funcional del ER.[8,9] En 1975, se planteó la hipótesis de que la sobreexpresión del PR puede ser un marcador predictivo de la respuesta al tratamiento endocrino.[8] Estudios posteriores han confirmado el valor pronóstico y predictivo del PR.[10,11] Un nivel mayor de la expresión del PR es un indicador de mejor respuesta al tratamiento endocrino.[10]

La detección del PR es fundamental en el tratamiento de pacientes con carcinoma de mama invasivo.[5,6,9] Las guías y las recomendaciones de las mejores prácticas hacen hincapié en que la inmunohistoquímica (IHC) es el método preferido para detectar el PR en el cáncer de mama.[9] Por lo tanto, la detección basada en IHC del PR con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) puede servir de ayuda en el tratamiento, el pronóstico y la predicción de la respuesta al tratamiento del carcinoma de mama.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) se une al PR 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 (*i*VIEW DAB Detection Kit) o mediante un conjugado de anticuerpo secundario y HRP (*ultra*View Universal DAB Detection Kit). El complejo específico de anticuerpo-enzima se puede visualizar a través del precipitado del producto de reacción enzimático.

Los casos clínicos se deberían evaluar dentro del contexto del rendimiento de los controles correspondientes. Ventana Medical Systems, Inc. (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-PR (1E2), 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 PR) 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-PR (1E2) para garantizar que la ampliación del antígeno y el resto de los procedimientos previos al tratamiento no generan falsos positivos en las tinciones.

MATERIAL SUMINISTRADO

El anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) (n.º cat. 790-2223) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL de anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) contiene aproximadamente 5 µg de anticuerpo monoclonal de conejo dirigido contra el antígeno PR humano.

El anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) (n.º cat. 790-4296) contiene reactivo suficiente para 250 pruebas.

Un dispensador de 25 mL de anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) contiene aproximadamente 25 µg de anticuerpo monoclonal de conejo dirigido contra el antígeno PR humano.

El anticuerpo se diluye en un tampón formado por Tris-HCl con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0.1 %, un conservante. Existen trazas (~ 0.2 %) de suero bovino fetal con origen en Estados Unidos de la solución de partida.

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

El anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) es un anticuerpo monoclonal de conejo producido como sobrenadante de cultivo celular.

Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener descripciones detalladas de los siguientes aspectos: 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 kits de detección VENTANA, ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

Puede que no todos los productos que aparecen en la hoja de datos estén 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. *i*View DAB Detection Kit (n.º cat. 760-091 / 05266157001)
5. Endogenous Biotin Blocking Kit (n.º cat. 760-050 / 05266092001)
6. *ultra*View Universal DAB Detection Kit (n.º de cat. 760-500 / 05269806001)
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 1 (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (n.º de 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, consérvese de 2-8 °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.[12]

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 y 25 °C).

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.

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. Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Recommended Slide Storage and Handling» para obtener más información al respecto.

Se recomienda analizar controles positivos y negativos a la vez que las muestras desconocidas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
4. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice guantes y ropa de protección.
5. Este producto contiene un 1 % de suero bovino o una cantidad menor, que se utiliza en la producción del anticuerpo.
6. 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.
7. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.[13,14]
8. 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.
9. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
10. 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 navifyportal.roche.com.
11. Consultar a las autoridades locales y/o estatales sobre el método de eliminación recomendado.
12. 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.
13. 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 de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
ADVER-TENCIA	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, masa reactiva 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 la Tabla 2 y la Tabla 3 para ver los protocolos de tinción recomendados.

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

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

Para obtener más información sobre el uso adecuado de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociada al N/P 790-4509 o 790-4296.

La verificación y validación de los protocolos de tinción recomendados en cada kit de detección se demuestran mediante las pruebas de control de diseño y los 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 validar todas las modificaciones que realice en el procedimiento de tinción recomendado.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) con *ultra*View Universal DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

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

Tabla 3. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) con *i*VIEW DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método	
	XT	ULTRA
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado
Cell Conditioning (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

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

Control de tejido positivo

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 y los instrumentos, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de prueba. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Es necesario incluir un control de tejido positivo en cada sesión de procedimiento de tinción que se lleve a cabo. El CAP recomienda que el control de tejido positivo se encuentre en el portaobjetos de la paciente.[9] Como ejemplo de control de tejido positivo para el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) se encuentra el carcinoma de mama positivo débil. Los componentes de tinción positiva de las células o el tejido (tinción nuclear de células tumorales) sirven para comprobar que el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) se ha aplicado y el instrumento ha funcionado correctamente. Este tejido 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.

Control tisular negativo

Con un control tisular que se haya fijado, procesado y embebido de la misma forma que las muestras del paciente se puede verificar en cada sesión de tinción la especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) para detectar la proteína PR, así como proporcionar una indicación sobre una tinción de fondo específica (falsos positivos en la tinción). Además, el especialista en laboratorio puede usar la variedad de distintos tipos de células presentes en la mayor parte de las secciones de tejido como control negativo interno para comprobar las especificaciones de rendimiento del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2). 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 VENTANA Antibody Diluent en la misma proporción de dilución que el antisuero del anticuerpo primario. En el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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 al VENTANA 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 mencionados

anteriormente en esta sección de la hoja de datos del producto y las recomendaciones sobre control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist o CLSI Approved Guideline o ambos documentos.[16,17] Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpo o siempre que se modifique el número de lote de uno de los reactivos en un conjunto coincidente o si se modifican los parámetros del ensayo. El control de calidad no se puede llevar a cabo eficazmente en un reactivo individual de manera aislada ya que los reactivos coincidentes, junto con un protocolo de ensayo definido, deben analizarse conjuntamente antes de usar un kit con fines diagnósticos. 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 TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El procedimiento de tinción provoca que un producto de reacción con color se precipite en los sitios del antígeno que localiza el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2). Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en procedimientos de IHC debe evaluar los controles positivos y negativos y calificar el producto con tinción antes de interpretar los resultados. El estado del receptor de progesterona se determina mediante el porcentaje de células tumorales con tinción. Para considerar que el resultado de un caso es positivo en PR, debe observarse una tinción en el núcleo de las células tumorales igual o superior al 1 %.[9]

Control de tejido positivo

El control de tejido positivo teñido con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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, ≥ 1 %. Los núcleos de las células tumorales deberían ser positivos. Es obligatorio considerar positiva únicamente la tinción nuclear si se quiere evitar la interpretación errónea de falsos positivos. También es posible utilizar el endometrio humano normal. En el caso del endometrio normal, la tinción del PR 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 PR 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 especifica, 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.[18]

Tejido del paciente

La tinción de muestras del paciente con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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 PR entre otras neoplasias, como el cáncer de ovario y de endometrio.[19] 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 inmunorreactividad, consulte las secciones Resumen y explicación, Limitaciones y Resumen de los resultados previstos.

LIMITACIONES

Limitaciones generales

1. La 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 de la manipulación y el procesamiento del tejido antes de 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 incompleta o excesiva puede comprometer la correcta interpretación 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. La posibilidad 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 de antígeno en neoplasias u otros tejidos anatomopatológicos.[20] 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 especifica con la peroxidasa de rábano.[21]
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.[18]
11. Como ocurre en todas las pruebas de IHC, un resultado negativo significa que no se ha detectado el antígeno, no necesariamente que el antígeno 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.

2. Un resultado negativo con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) no descarta la presencia del PR. 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 estrógeno.
3. Se ha observado la presencia de tinción nuclear positiva con el clon del anticuerpo 1E2 en tejido de amígdala.[22] El anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) no está indicado para su uso con la amígdala. Por lo tanto, si se utiliza tejido de amígdala como control tisular negativo, se deben cribar los tejidos de amígdala para asegurar que se ha seleccionado un caso de tinción negativa.

Es posible que no todos los ensayos estén registrado en todos los instrumentos. 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, la especificidad y la precisión y los resultados se indican a continuación.

Sensibilidad y especificidad

La sensibilidad y la especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) se determinaron mediante la tinción de varios casos de tejidos humanos normales. Los resultados se resumen en la Tabla 4 y la Tabla 5. Se observó tinción nuclear positiva en todos los tejidos estudiados, con la única excepción del tejido de ovario, que presentó una tinción negativa imprevista. También se observó la presencia de tinción positiva en tejido tiroideo, algo que se había detectado ya anteriormente.[23] La tinción nuclear positiva con el clon del anticuerpo 1E2 ya se había visto en tejido de amígdala.[22]

Tabla 4. La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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	2/3	Colon	0/3
Páncreas	3/3	Hígado	0/3
Glándula paratiroidea	0/4	Glándula salival	0/3
Glándula pituitaria	3/3	Riñón	0/3
Testículos	0/3	Próstata	1/3
Tiroides	0/5	Vejiga	0/5
Mama [a]	4/4	Endometrio	1/3
Bazo	1/3	Cuello del útero	8/8
Amígdala	1/3	Músculo esquelético	0/5
Timo	0/3	Piel	0/3
Médula ósea	0/3	Nervio	0/3
Pulmón	0/3	Mesotelio	0/3
Corazón	0/3		

[a] Entre los tejidos había tejido fibroadiposo.

La inmunorreactividad del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) se determinó mediante la tinción de varios casos de tejidos humanos neoplásicos. Los casos se consideraron positivos en PR cuando se observó tinción del núcleo en, al menos, ≥ 1 % de las células tumorales invasivas.

Tabla 5. La sensibilidad/especificidad del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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)	1/1
Adenocarcinoma mucinoso (ovario)	0/1
Neoplasia neuroendocrina (páncreas)	1/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1
Seminoma (testículos)	0/1
Carcinoma embrionario (testículos)	0/1
Carcinoma medular (tiroides)	1/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal in situ (mama)	1/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/1
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
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
Carcinoma urotelial (uretra prostática)	1/1
Leiomioma (útero)	1/1
Adenocarcinoma (útero)	1/2
Carcinoma de células claras (útero)	0/1
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	1/1
Rabdomiosarcoma embrionario (músculo estriado)	0/1
Carcinoma de células escamosas (músculo estriado)	0/1
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Neurofibroma (mediastino)	1/1
Neuroblastoma (retroperitoneo)	1/1

Patología	N.º de casos positivos/total
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

La sensibilidad depende de la preservación 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 del PR que tiene el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2), 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 repetibilidad, se realizó la tinción de seis casos de tejidos independientes. De los seis tejidos, dos presentaban una elevada expresión del PR; en dos se observaba una expresión reducida del PR y los otros dos daban resultado negativo en PR 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 expresión elevada si el valor era > 10 %.

Para llevar a cabo la prueba de repetibilidad dentro del análisis, se realizó la tinción de 9 portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) y un portaobjetos de cada caso se tiñó con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig en un instrumento BenchMark XT. Se aplicó la misma configuración de prueba en un instrumento BenchMark ULTRA. La repetibilidad dentro del análisis del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en los instrumentos BenchMark XT y BenchMark ULTRA concordó al 100 % en todos los tejidos positivos de los seis casos.

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-PR (1E2) 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. Se aplicó la misma configuración de prueba en un instrumento BenchMark ULTRA. La precisión intermedia entre días del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en los instrumentos BenchMark XT y BenchMark ULTRA concordó al 100 % en todos los tejidos positivos de los seis casos.

Para llevar a cabo la prueba de precisión intermedia entre instrumentos BenchMark XT, se realizó la tinción de 4 portaobjetos de seis casos con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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-PR (1E2) en los tres instrumentos BenchMark XT concordaba al 100 % en los seis casos.

Para llevar a cabo la prueba de precisión intermedia entre instrumentos BenchMark ULTRA, se realizó la tinción de 4 portaobjetos de seis casos con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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-PR (1E2) en los tres instrumentos BenchMark ULTRA concordó al 100 % en los seis casos.

Todas las pruebas de reproducibilidad cumplieron los criterios de aceptación para que el resultado fuera apto.

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 del PR; en tres se observaba una expresión reducida del PR y los otros tres daban un resultado negativo en PR 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 cinco portaobjetos de cada caso con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) y un portaobjetos de cada caso se tiñó con el anticuerpo CONFIRM Negative Control Rabbit Ig en un instrumento BenchMark ULTRA PLUS. La repetibilidad dentro del análisis del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS concordó al 100 %. Los portaobjetos teñidos con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig resultaron 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-PR (1E2) 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-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS fue del 97.8 %. Los portaobjetos teñidos con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig resultaron 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-PR (1E2) 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-PR (1E2) en los tres instrumentos BenchMark ULTRA PLUS fue del 98.1 %.

Reproducibilidad entre laboratorios

Se llevó a cabo un estudio de reproducibilidad entre laboratorios con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) 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 mediante *i*VIEW DAB y el *ultra*View Universal DAB Detection Kit en cada uno de los 5 días no consecutivos durante un periodo mínimo de 20 días en 3 laboratorios externos. Las muestras se aleatorizaron y fueron evaluadas por un total de 6 anatomopatólogos (2 anatomopatólogos por sitio) para determinar el porcentaje de células tumorales con tinción. Un caso se consideraba positivo en PR cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, el 1 % de las células tumorales invasivas.[9]

En cuanto a la precisión entre centros, los porcentajes del promedio de concordancia positiva (APA) y del promedio de concordancia negativa (ANA) en la evaluación clínica del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) fueron del 99.7 % y 99.1 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *i*VIEW; del 98.6 % y 95.4 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante el *ultra*View Universal DAB Detection Kit; del 99.4 % y del 98.4 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *i*VIEW; y del 97.4 % y 91.3 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante el *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

En cuanto a la precisión entre días, los porcentajes de APA y ANA en la evaluación clínica del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) fueron de 99.7 % y 99.1 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *i*VIEW; de 98.5 % y 95.5 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con *ultra*View Universal DAB Detection Kit; de 99.3 % y 98.3 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *i*VIEW y de 97.0 % y 90.8 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

En cuanto a la precisión entre lectores, los porcentajes de APA y ANA en la evaluación clínica del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) fueron de 99.7 % y 99.1 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con detección mediante *i*VIEW; de 98.6 % y 95.6 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark ULTRA con *ultra*View Universal DAB Detection Kit; de 99.3 % y 98.3 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con detección mediante *i*VIEW y de 98.6 % y 95.1 %, respectivamente, en el instrumento BenchMark XT con *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

En cuanto a la precisión entre plataformas en los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark XT, los porcentajes de APA y ANA fueron de 99.5 % y 98.7 %, respectivamente, para la detección mediante *i*VIEW y de 98.0 % y 93.9 %, respectivamente, con *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

En cuanto a la precisión en la misma plataforma, los porcentajes de APA y ANA fueron de 98.7 % y 96.4 %, respectivamente, para el instrumento BenchMark ULTRA y de 97.4 % y 92.6 %, respectivamente, para el instrumento BenchMark XT.

Comparativa entre *i*VIEW DAB Detection Kit y *ultra*View Universal DAB Detection Kit con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2).

Se utilizó el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) para llevar a cabo una prueba comparativa de detección en dos instrumentos (BenchMark XT y BenchMark ULTRA) con el kit de detección *i*VIEW DAB y con *ultra*View Universal DAB Detection Kit. Para llevar a cabo la prueba, se usaron ciento noventa y nueve casos de tejido. Del total, aproximadamente la mitad eran positivos y la otra mitad negativos en función del porcentaje de células tumorales que presentaba tinción Los portaobjetos teñidos se sometieron a la evaluación de anatomopatólogos, quienes determinaron el porcentaje de

células tumorales teñidas. Un caso se consideraba positivo en PR cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, un 1 % de las células tumorales.

El índice de aceptabilidad de la morfología y del fondo fue del 100 % tanto en los kits de detección como en los instrumentos, salvo en el caso de *ultra*View Universal DAB Detection Kit en el instrumento BenchMark ULTRA cuyo índice de aceptabilidad del fondo fue del 99.5 %. Las comparaciones directas de las evaluaciones clínicas positivas y negativas entre los kits de detección en cada plataforma se muestran en la Tabla 6 para el instrumento BenchMark ULTRA y en la Tabla 7 para el instrumento BenchMark XT.

Tabla 6. Evaluación clínica de *ultra*View Universal DAB Detection Kit frente a *i*VIEW DAB Detection Kit con el instrumento BenchMark ULTRA.

*ultra*View Universal DAB Detection Kit	*i*VIEW DAB Detection Kit		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	94	11	105
Negativa	2	86	88
Total	96	97	193
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	94/96	97.9 (92.7-99.4)	
Porcentaje de concordancia negativa	86/97	88.7 (80.8-93.5)	
Porcentaje de concordancia global	180/193	93.3 (88.8-96.0)	

Tabla 7. Evaluación clínica de *ultra*View Universal DAB Detection Kit frente a *i*VIEW DAB Detection Kit con el instrumento BenchMark XT.

*ultra*View Universal DAB Detection Kit	*i*VIEW DAB Detection Kit		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	91	14	105
Negativa	2	86	88
Total	93	100	193
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	91/93	97.8 (92.5-99.4)	
Porcentaje de concordancia negativa	86/100	86.0 (77.9-91.5)	
Porcentaje de concordancia global	177/193	91.7 (87.0-94.8)	

La concordancia de la evaluación clínica entre los kits de detección en ambos instrumentos estuvo por encima del 90 %: un 93.3 % (n = 193) y un 91.7 % (n = 193) en los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark XT, respectivamente. Los índices de concordancia de la puntuación de tinción de *ultra*View Universal DAB Detection Kit en comparación con el kit de detección *i*VIEW DAB fueron de 90.2 % (n = 193) y 85.5 % (n = 193).

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-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS frente al instrumento BenchMark ULTRA. El rango clínico del ensayo estaba representado por ciento treinta y cuatro (134) casos de tejido de carcinoma de mama (61 positivos en PR, 61 negativos en PR y 12 positivos en PR en el límite). Los portaobjetos teñidos se sometieron a la evaluación de anatomopatólogos, quienes determinaron el porcentaje de células tumorales teñidas. Un caso se consideró positivo en PR cuando se observó tinción del núcleo en, al menos, ≥ 1 % de las células tumorales invasivas.[9] La comparación directa del estado positivo y negativo en PR entre el instrumento BenchMark ULTRA y el instrumento BenchMark ULTRA PLUS se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS y anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA (excluidos los casos positivos en el límite).

Instrumento BenchMark ULTRA PLUS	Instrumento BenchMark ULTRA		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	79	2	81
Negativa	6	23	29
Total	85	25	110
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	79/85	92.9 (85.4-96.7)	
Porcentaje de concordancia negativa	23/25	92.0 (75.0-97.8)	
Porcentaje de concordancia global	102/110	92.7 (86.3-96.3)	

El índice de aceptabilidad de la morfología en todos los portaobjetos con tinción del estudio fue del 100.0 % (C.I. del 95 %, 97.2 %-100.0 %) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS. El índice de aceptabilidad del fondo fue del 100.0 % (C.I. del 95 %, 97.2 %-100.0 %) en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS.

RENDIMIENTO CLÍNICO

Comparación entre el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) y FLEX anti-PR (PgR 636).

Se llevó a cabo un estudio aleatorizado, en múltiples centros y con lector múltiple para comparar el rendimiento de tinción del anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA y el instrumento BenchMark XT con el de Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR [PgR 636]) en un Dako Autostainer Plus. En los instrumentos BenchMark IHC/ISH, se bloqueó la biotina endógena con VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit. El anticuerpo se detectó con el kit de detección *i*VIEW DAB. En la plataforma Dako, la detección del anticuerpo se realizó mediante EnVision Flex, High pH. El rango clínico del ensayo estaba representado por aproximadamente 120 casos de cáncer de mama negativos y 216 casos positivos, que se asignaron aleatoriamente a los tres sitios 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-PR (1E2) en un instrumento BenchMark ULTRA, en un instrumento BenchMark XT con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) y en un instrumento Dako Autostainer Plus con FLEX anti-PR (PgR 636). Los portaobjetos teñidos se sometieron a la evaluación de anatomopatólogos, quienes determinaron el porcentaje de células tumorales teñidas. Un caso se consideraba positivo en PR cuando se observaba tinción del núcleo en, al menos, el ≥ 1 % de las células tumorales invasivas.[9]

Tabla 9. Comparación entre el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA y FLEX anti-PR (PgR 636) en Dako Autostainer Plus.

Anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva:	200	7	207
Negativa:	9	104	113
Total:	209	111	320
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	200/209	95.7 (92.0-97.7)	
Porcentaje de concordancia negativa	104/111	93.7 (87.6-96.9)	

Anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positiva	Negativa	Total
Porcentaje de concordancia global	304/320	95.0 (92.0-96.9)	

Tabla 10. Comparación entre el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark XT y FLEX anti-PR (PgR 636) en Dako Autostainer Plus.

Anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva:	186	9	195
Negativa:	18	100	118
Total:	204	109	313
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	186/204	91.2 (86.5-94.3)	
Porcentaje de concordancia negativa	100/109	91.7 (85.0-95.6)	
Porcentaje de concordancia global	286/313	91.4 (87.7-94.0)	

En el caso de la tinción con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark XT, en comparación con FLEX anti-PR (PgR 636) en un Dako Autostainer Plus, los índices de concordancia global, positiva y negativa (obtenidos en todos los centros) fueron superiores al 90 %.

Tabla 11. Comparación entre el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA y el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark XT.

Instrumento BenchMark ULTRA	Instrumento BenchMark XT		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva:	184	12	196
Negativa:	6	105	111
Total:	190	117	307
	n/N	% (CI del 95 %)	
Porcentaje de concordancia positiva	184/190	96.8 (93.3-98.5)	
Porcentaje de concordancia negativa	105/117	89.7 (82.9-94.0)	
Porcentaje de concordancia global	289/307	94.4 (90.9-96.3)	

En el caso de la tinción con el anticuerpo CONFIRM anti-PR (1E2) en el instrumento BenchMark ULTRA, en comparación con el instrumento BenchMark XT, los índices de concordancia global, positiva y negativa fueron superiores al 89 %.

Los índices de aceptabilidad de la morfología en todos los portaobjetos con tinción del estudio fueron de 99.7 % (C.I. del 95 %, 98.3 %-99.9 %) en el instrumento BenchMark ULTRA y de 96.1 % (C.I. del 95 %, 93.5 %-97.7 %) en el instrumento BenchMark XT. Los índices de aceptabilidad del fondo fueron de 99.4 % (C.I. del 95 %, 97.9 %-99.8 %) en el instrumento BenchMark ULTRA y de 95.2 % (C.I. del 95 %, 92.4 %-97.0 %) en el instrumento BenchMark XT.

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. 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.

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 USA: consulte elabdoc.roche.com/symbols para obtener más información).

GTIN	Número mundial de artículo comercial
Rx only	Para USA: Precaución: Las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos.

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev	Actualizaciones
H	Corrección a la referencia de la Tabla 8. Actualización a la plantilla actual.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM y ULTRAVIEW son marcas comerciales de Roche. Todos los demás nombres de productos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMACIÓN DE CONTACTO

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