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

REF 790-2223 Σ 50

05277990001

REF 790-4296 Σ 250

05278392001

IVD

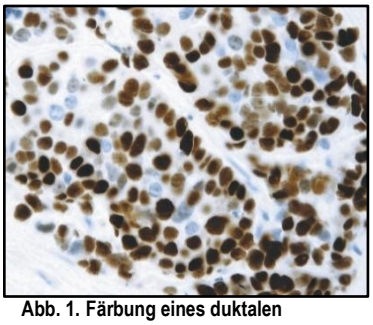

Abb. 1. Färbung eines duktalen Mammakarzinoms mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper.

VERWENDUNGSZWECK

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody ist für den Laboreinsatz zum qualitativen Nachweis von Progesteronrezeptor(PR)-Antigen in Schnitten von formalinfixiertem, paraffineingebettetem Gewebe auf einem VENTANA Färbeautomat mit VENTANA Nachweiskits und Hilfsreagenzien bestimmt. CONFIRM anti-PR (1E2) ist gegen ein Epitop gerichtet, das im humanen Progesteronrezeptorprotein im Nukleus von PR-positiven normalen und neoplastischen Zellen vorhanden ist. CONFIRM anti-PR (1E2) ist zur Unterstützung bei der Behandlung, Prognose und Vorhersage des Erfolgs einer Hormontherapie bei Mammakarzinom bestimmt.

Dieses Produkt muss von einem qualifizierten Pathologen in Verbindung mit histologischen Untersuchungen, klinisch relevanten Informationen und geeigneten Kontrollen interpretiert werden.

Verschreibungspflichtig.

Dieser Antikörper ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD) bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper) ist ein monoklonaler Kaninchen-Antikörper, der die Isoformen A und B des humanen Progesteronrezeptors (PR) erkennt. Das Immunogen wurde aus einem synthetischen Peptid entwickelt, das als gemeinsamer Bereich potenziell hoher Antigenität der Formen A und B des Progesteronrezeptors identifiziert wurde. Das Peptid wurde synthetisiert und kovalent an Schlitzschnecken-Hämocyanin gebunden, um die Antigenität weiter zu erhöhen. Der CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper reagiert im Western-Blot mit Proteinen von T47D mit 60 kD, 87 kD und 110 kD. Die Proteingrößen entsprechen der vorhergesagten Molekülmasse der Progesteronrezeptorformen A, B und C.[1]

PR ist ein nukleärer Hormonrezeptor, der von einem einzelnen Gen (PGR) codiert wird.[1,2] Die Aktivität des PR wird durch einen anderen, eng verwandten Hormonrezeptor, den nukleären Östrogenrezeptor (ER), reguliert. Die koordinierten Aktivitäten des ER und des PR steuern die normale Brustdrüsenentwicklung und sind für die Differenzierung und Proliferation des Brustepithels von Erwachsenen erforderlich.[1,2,3]

Brustkrebs ist die Hauptursache für krebsbedingte Todesfälle bei Frauen.[4] Die Diagnose und Behandlung der Erkrankung beruht auf einer frühen Erkennung in Verbindung mit einer zuverlässigen Strategie zur Stratifizierung von Patienten für die geeignete Therapie basierend auf prognostischen und prädiktiven Faktoren.[5,6] Die etablierte Diagnostik von Brustkrebs ist eine Kombination aus körperlicher Untersuchung, Bildgebung und pathologischer Beurteilung.[5]

ER ist einer der wesentlichen Tumormarker für das Management von Brustkrebspatienten. Klinischen Leitlinien und Empfehlungen bewährter Verfahren zufolge sollte der ER-Status bei jedem Fall von primärem invasivem Brustkrebs bestimmt werden, um Patienten zu identifizieren, die am wahrscheinlichsten auf endokrine Therapieformen ansprechen.[5,6] Selektive Estrogenrezeptormodulatoren blockieren das durch Estrogen vermittelte Krebswachstum, indem sie die ER-Hyperaktivität verringern, und werden als endokrine Therapie bei Patienten mit Überexpression des Rezeptors eingesetzt.[6,7]

In der Praxis sprechen fast die Hälfte der ER-positiven Patienten nicht auf eine Hormonbehandlung an; ein Phänomen, das mit der malignen Transformation des Rezeptors in Karzinom-Läsionen verbunden ist.[8] Die PR-Überexpression kann verwendet werden, um den Brusttumor weiter zu charakterisieren und das Therapieansprechen vorherzusagen, indem sie als Reporter zur Evaluierung des funktionalen Status von ER fungiert.[8,9] 1975 wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Überexpression von PR ein prädiktiver Marker für das Ansprechen auf eine Hormontherapie sein kann.[8] Nachfolgende Studien bestätigten den prädiktiven und prognostischen Nutzen von PR.[10,11] Eine höhere PR-Expression ist ein Indikator für ein besseres Ansprechen auf Hormontherapien.[10]

Der Nachweis von PR ist ein Grundstein für das Management von Patienten mit invasivem Mammakarzinom.[5,6,9] Leitlinien und Empfehlungen bewährter Verfahren stellen heraus, dass die Immunhistochemie (IHC) die bevorzugte Methode für den Nachweis von PR in Brustkrebs ist.[9] Daher kann der IHC-basierte Nachweis von PR mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper als Hilfsmittel beim Management, der Prognose und der Vorhersage des Therapieerfolgs bei Mammakarzinomen dienen.

VERFAHRENSPRINZIP

Der CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper bindet an den PR in formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten. Der spezifische Antikörper kann entweder durch eine Formulierung mit einem biotinkonjugiertem sekundären Antikörper, der Kaninchen-Immunglobuline erkennt, gefolgt von der Zugabe eines Streptavidin-Meerrettichperoxidase (HRP)-Konjugats (*i*VIEW DAB Detection Kit), oder eines Konjugats aus einem sekundären Antikörper und HRP (*ultra*View Universal DAB Detection Kit) lokalisiert werden. Der spezifische Antikörper-Enzym-Komplex wird dann mit einem Enzym-Reaktionsprodukt sichtbar gemacht, das einen Niederschlag bildet.

Klinische Fälle sollten im Kontext der Durchführung angemessener Kontrollen ausgewertet werden. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) empfiehlt die Verwendung einer positiven Gewebekontrolle, die auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe fixiert und verarbeitet wird (z. B. Gewebe aus einem schwach positiven Mammakarzinom oder aus der Gebärmutter). Neben der Färbung mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper sollte ein zweiter Objektträger mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbt werden. Damit der Test als gültig betrachtet werden kann, sollte das positive Kontrollgewebe eine Zellkernfärbung der Tumorzellen bzw. des Gebärmutterdrüsengewebes und -stromas aufweisen. Diese Bestandteile sollten bei der Färbung mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig negativ sein. Außerdem wird empfohlen, dass bei jeder Charge von Proben, die auf einem BenchMark IHC/ISH Gerät verarbeitet und analysiert wird, ein Objektträger mit einer negativen Gewebekontrolle mitgeführt wird (z. B. Gewebe eines PR-negativen Mammakarzinoms). Diese negative Gewebekontrolle sollte mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper gefärbt werden, um sicherzustellen, dass die Antigenanreicherung und andere Vorbehandlungsverfahren keine falsch-positive Färbung verursacht haben.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

Der CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper (Art.-Nr. 790-2223) enthält ausreichendes Reagenzmaterial für 50 Tests.

Ein 5-mL-Spender mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper enthält etwa 5 µg eines monoklonalen Kaninchen-Antikörpers gegen ein Antigen des humanen PR.

Der CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper (Art.-Nr. 790-4296) enthält ausreichendes Reagenzmaterial für 250 Tests.

Ein 25-mL-Spender mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper enthält etwa 25 µg eines monoklonalen Kaninchen-Antikörpers gegen ein Antigen des humanen PR.

Der Antikörper ist in Tris-HCl mit Trägerprotein und 0.1 % ProClin 300, einem Konservierungsmittel, verdünnt. Es sind Spuren (~ 0.2 %) von fötalem Kälberserum US-amerikanischer Herkunft aus der Stammlösung vorhanden.

Die spezifische Antikörperkonzentration beträgt etwa 1 µg/mL. Bei diesem Produkt wurde keine bekannte unspezifische Antikörperreaktivität festgestellt.

Der CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper ist ein monoklonaler Kaninchen-Antikörper, der als Zellkulturüberstand hergestellt wird.

Ausführliche Beschreibungen der folgenden Themen sind dem Methodenblatt des entsprechenden Nachweiskits von VENTANA zu entnehmen: Verfahrensprinzip, Materialien und Methoden, Probensammlung und -vorbereitung zur Analyse, Qualitätskontrollverfahren, Fehlerbehebung, Interpretation der Ergebnisse und Einschränkungen.

NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE, ABER ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Färbereagenzien wie die VENTANA Nachweiskits und Hilfskomponenten, einschließlich der Objektträger mit negativen und positiven Gewebekontrollen, werden nicht mitgeliefert.

Möglicherweise sind nicht alle in dem Methodenblatt aufgeführten Produkte in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an den zuständigen Kundendienst.

Die folgenden möglicherweise für die Färbung benötigten Reagenzien und Materialien sind nicht im Lieferumfang enthalten:

1. Empfohlenes Kontrollgewebe
2. Objektträger, positiv geladen
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (Art.-Nr. 760-1029 / 05266238001)
4. *i*View DAB Detection Kit (Art.-Nr. 760-091 / 05266157001)
5. Endogenous Biotin Blocking Kit (Art.-Nr. 760-050 / 05266092001)
6. *ultra*View Universal DAB Detection Kit (Art.-Nr. 760-500 / 05269806001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning 1 (CC1) (Art.-Nr. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (Art.-Nr. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (Art.-Nr. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (Art.-Nr. 760-2037 / 05266769001)
15. BenchMark IHC/ISH Gerät
16. Allgemeine Laborgeräte

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Bei Annahme, und wenn nicht verwendet, bei 2-8 °C lagern. Nicht einfrieren.

Um die ordnungsgemäße Abgabe der Reagenzien und die Stabilität des Antikörpers zu gewährleisten, muss die Spender-Verschlusskappe nach jedem Gebrauch wieder aufgesetzt und der Spender sofort in aufrechter Position in den Kühlschrank gestellt werden.

Jeder Antikörperspender ist mit einem Verfallsdatum versehen. Bei korrekter Lagerung ist das Reagenz bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Das Reagenz darf nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

PROBENVORBEREITUNG

Für diesen primären Antikörper eignet sich routinemäßig präpariertes FFPE-Gewebe, wenn es mit einem VENTANA Nachweiskit und einem BenchMark IHC/ISH Gerät verwendet wird. Für die Probenaufbereitung werden die folgenden Schritte empfohlen.[12]

Die Probe in 10 % neutral gepuffertes Formalin geben. Die verwendete Menge sollte das 15- bis 20-fache Volumen des Gewebes betragen. Kein Fixiermittel dringt innerhalb von 24 Stunden mehr als 2 bis 3 mm in festes Gewebe oder mehr als 5 mm in poröses Gewebe ein. Ein Gewebeschnitt von 3 mm oder kleiner sollte mindestens 4 Stunden und höchstens 8 Stunden fixiert werden. Die Fixierung kann bei Raumtemperatur (15-25 °C) stattfinden.

Nach der Fixierung wird die Probe über Nacht in ein Gerät zur Gewebeaufbereitung gegeben. Kurz zusammengefasst, besteht diese Aufbereitung aus der Dehydratisierung der Probe mit Alkoholen, gefolgt von Klärreagenzien zur Entfernung von Alkoholen und schließlich der Infiltration mit Paraffin.

Die Proben werden in Gewebekassetten mit Paraffin eingebettet und etwa 4 µm dicke Schnitte werden geschnitten, zentriert und auf Objektträger aufgebracht. Es sollten Superfrost Plus oder gleichwertige Objektträger verwendet werden. Das Gewebe sollte luftgetrocknet werden, indem die Objektträger über Nacht bei Umgebungstemperatur stehen gelassen oder für 30 Minuten in einen Ofen mit 60 °C gelegt werden.

Die Objektträger sind möglichst sofort zu färben, da die Antigenität der Gewebeschnitte mit der Zeit nachlassen kann. Bitten Sie Ihren Roche Vertreter um ein Exemplar des Informationsblattes „Recommended Slide Storage and Handling“, das weiterführende Informationen enthält.

Es wird empfohlen, unbekannte Proben gleichzeitig mit positiven und negativen Kontrollen zu testen.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD).
2. Nur zur professionellen Verwendung.
3. Nur für die angegebene Testanzahl verwenden.
4. ProClin 300 Lösung wird als Konservierungsmittel in diesem Reagenz verwendet. Es ist als Reizstoff eingestuft und kann eine Sensibilisierung durch Hautkontakt hervorrufen. Beim Umgang mit diesem Mittel angemessene Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden. Schutzhandschuhe und entsprechende Schutzkleidung tragen.
5. Dieses Produkt enthält 1 % oder weniger Rinderserum, das zur Herstellung des Antikörpers verwendet wird.
6. Positiv geladene Objektträger können gegenüber umgebungsbedingten Belastungen anfällig sein, die zu einer nicht adäquaten Färbung führen. Mehr Informationen über die Verwendung dieser Arten von Objektträgern erhalten Sie von Ihrem Roche Servicetechniker.
7. Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen als biogefährliche Stoffe behandelt und mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Im Falle einer Exposition sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörden zu beachten.[13,14]
8. Kontakt der Reagenzien mit Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt von Reagenzien mit empfindlichen Körperteilen mit reichlich Wasser spülen.
9. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da dies zu fehlerhaften Versuchsergebnissen führen kann.
10. Weiterführende Informationen zur Verwendung dieses Produkts sind dem Benutzerhandbuch des BenchMark IHC/ISH Geräts und den Gebrauchsanweisungen der benötigten Komponenten auf navifyportal.roche.com zu entnehmen.
11. Anweisungen zur vorschriftsmäßigen Entsorgung sind bei den zuständigen kommunalen und/oder staatlichen Behörden erhältlich.
12. Die Kennzeichnung der Produktsicherheit erfolgt in erster Linie nach der EU-GHS-Verordnung. Sicherheitsdatenblätter sind für professionelle Benutzer auf Anfrage erhältlich.
13. Bei Verdacht auf ein schwerwiegendes Ereignis im Zusammenhang mit diesem Produkt wenden Sie sich an den Roche-Vertreter vor Ort und melden das Ereignis bei der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaats bzw. des Landes, in dem sich der Benutzer befindet.

Dieses Produkt enthält Bestandteile, die nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 wie folgt eingestuft sind:

Tabelle 1. Gefahrenhinweis.

Gefahr	Code	Hinweis
WARNUNG	H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
	H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
	P261	Nebel oder Dämpfe nicht einatmen.
	P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
	P280	Schutzhandschuhe tragen.
	P333 + P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
	P362 + P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
	P501	Inhalt/Behälter einer zugelassenen Müllentsorgungsanlage zuführen.

Dieses Produkt enthält CAS-Nr. 55965-84-9, eine Reaktionsmasse aus: 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

FÄRBEVERFAHREN

VENTANA Primärantikörper wurden zur Verwendung auf einem BenchMark IHC/ISH Gerät in Kombination mit VENTANA Nachweiskits und Zubehör entwickelt. Die empfohlenen Färbeprotokolle sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 zu finden.

Dieser Antikörper wurde für spezifische Inkubationszeiten optimiert, der Benutzer sollte jedoch die mit diesem Reagenz erzielten Ergebnisse überprüfen.

Die Parameter für die automatisierten Verfahren können gemäß dem Verfahren im Benutzerhandbuch des Geräts angezeigt, gedruckt und bearbeitet werden. Weitere Informationen zu immunhistochemischen Färbeverfahren können dem Methodenblatt des entsprechenden VENTANA Nachweiskits entnommen werden.

Weitere Hinweise zur ordnungsgemäßen Verwendung dieses Produkts finden Sie im Methodenblatt des integrierten Spenders (Art.-Nr. 790-4509 oder 790-4296).

Die Verifizierung und Validierung des für jedes Nachweiskit empfohlenen Färbeprotokolls wird mithilfe von Tests zur Entwurfskontrolle und Ergebnissen klinischer Studien durchgeführt.

Jegliche Änderung des empfohlenen Färbeverfahrens macht die in diesem Methodenblatt angegebenen Leistungsmerkmale ungültig. Änderungen des empfohlenen Färbeverfahrens müssen vom Benutzer validiert werden.

Tabelle 2. Empfohlenes Färbeprotokoll für den CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper mit *ultra*View Universal DAB Detection Kit auf BenchMark IHC/ISH Geräten.

Art der Vorgehensweise	Methode	
	XT	ULTRA oder ULTRA PLUS
Entparaffinisierung	Ausgewählt	Ausgewählt
Cell Conditioning (antigendemaskierung)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
(Primärer) Antikörper	16 Minuten, 37 °C	16 Minuten, 36 °C
Gegenfärbung (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 Minuten	Hematoxylin II, 4 Minuten
Abschließende Gegenfärbung	Bluing, 4 Minuten	Bluing, 4 Minuten

Tabelle 3. Empfohlenes Färbeprotokoll für den CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper mit iVIEW DAB Detection Kit auf BenchMark IHC/ISH Geräten.

Art der Vorgehensweise	Methode	
	XT	ULTRA
Entparaffinisierung	Ausgewählt	Ausgewählt
Cell Conditioning (antigendemaskierung)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
(Primärer) Antikörper	16 Minuten, 37 °C	16 Minuten, 36 °C
A/B-Gewebeblock (Biotinblockierung)	Erforderlich	Erforderlich
Gegenfärbung	Hematoxylin II, 4 Minuten	Hematoxylin II, 4 Minuten
Abschließende Gegenfärbung	Bluing, 4 Minuten	Bluing, 4 Minuten

QUALITÄTSKONTROLLVERFAHREN

Positive Gewebekontrolle

Im Rahmen der optimalen Laborpraxis wird jedem Objektträger mit Testprobe ein positiver Kontrollschnitt hinzugefügt. Auf diese Weise können Fehler bei Anwendung der Reagenzien auf den Objektträger erkannt werden. Gewebe mit schwach positiver Färbung ist zur Qualitätskontrolle am besten geeignet.

Nachweislich positive Gewebekontrollen dürfen nur zur Kontrolle der Leistung von Reagenzien und Geräten verwendet werden und nicht als Unterstützung bei der Erstellung einer spezifischen Diagnose von Testproben. Wenn mit der positiven Gewebekontrolle keine positive Färbung nachgewiesen werden kann, gelten die Ergebnisse der Testprobe als ungültig.

Bei jedem Färbeverfahren muss eine positive Gewebekontrolle mitgeführt werden. Das College of American Pathologists (CAP) empfiehlt, dass eine positive Gewebekontrolle auf dem Objektträger mit der Patientenprobe durchgeführt wird.[9] Ein Beispiel für Gewebe, das als positive Kontrolle mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper verwendet werden kann, ist Gewebe eines schwach positiven Mammakarzinoms. Die positiv färbenden Zellen oder Gewebebestandteile (Zellkernfärbung von Tumorzellen) dienen zur Bestätigung, dass der CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper aufgetragen wurde und das Gerät korrekt funktioniert hat. Dieses Gewebe kann sowohl positiv als auch negativ färbende Zellen oder Gewebebestandteile enthalten und damit als Positiv- wie auch als Negativkontrolle verwendet werden. Das Kontrollgewebe muss eine frische Probe einer Autopsie, Biopsie oder eines chirurgischen Eingriffs sein und so schnell wie möglich auf identische Weise wie die Probenschnitte präpariert oder fixiert werden. Mit diesem Gewebe können alle Verfahrensschritte von der Gewebepräparation bis zur Färbung kontrolliert werden. Die Verwendung eines Gewebeschnitts, der anders als die Testprobe fixiert oder aufgearbeitet wurde, ermöglicht die Kontrolle aller Reagenzien und Methodenschritte mit Ausnahme der Fixierung und Gewebeaufbereitung.

Ein Gewebe mit schwacher positiver Färbung ist zur optimalen Qualitätskontrolle und zum Nachweis eines geringfügigen Reagenzabbaus besser geeignet als eines mit starker positiver Färbung. Idealerweise sollte ein Mammakarzinomgewebe gewählt werden, von dem bekannt ist, dass es eine schwache, aber positive Färbung aufweist, um sicherzustellen, dass das System Sensitivität gegenüber einem geringfügigen Reagenzabbau oder Problemen mit der IHC-Methodik zeigt.

Als Alternative kann normale humane proliferative Gebärmutterschleimhaut für eine Positivkontrolle verwendet werden. Es ergibt sich eine positive Zellkernfärbung des Drüsenepithels sowie der Zellen im Stroma und der glatten Muskulatur. Das Gewebe der Gebärmutterschleimhaut färbt sich jedoch möglicherweise nicht schwach genug, um einen geringfügigen Reagenzabbau oder Probleme mit der IHC-Methodik festzustellen.

Negative Gewebekontrolle

Bei jedem Färbelauf ist eine Gewebekontrolle zu verwenden, von der bekannt ist, dass sie auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, aufbereitet und eingebettet wurde, um die Spezifität des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers zum Nachweis des PR zu verifizieren und Aufschluss über spezifische Hintergrundfärbung (falsch-positive Färbung) zu erhalten. Zudem kann die Vielfalt der verschiedenen Zelltypen in den meisten Gewebeschnitten vom Labortechniker als interne Negativkontrolle genutzt werden, um die Leistungsdaten des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers zu überprüfen. Beispielsweise kann dasselbe Gewebe (Gebärmutterschleimhaut), das für die positive Gewebekontrolle verwendet wird, auch als negative Gewebekontrolle verwendet werden. In Zellen, in denen keine Färbung erwartet wird, dürfen die entsprechenden Bestandteile (Zytoplasma, Zellmembran) keine spezifische Färbung aufweisen, um Aufschluss auf spezifische Hintergrundfärbung zu liefern. Auch die negative Gewebekontrolle sollte als Unterstützung bei der Interpretation der Ergebnisse herangezogen werden. Die Vielfalt der verschiedenen Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorhanden sind, ist häufig als negative Kontrolle geeignet, dies sollte jedoch vom Benutzer überprüft werden. Wenn in der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung auftritt, gelten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig.

Negative Reagenzkontrolle

Für jede Probe muss eine negative Reagenzkontrolle durchgeführt werden, um die Interpretation der Ergebnisse zu unterstützen. Eine negative Reagenzkontrolle wird anstelle des primären Antikörpers zur Bewertung von unspezifischer Färbung und für eine bessere Interpretation der spezifischen Färbung an der Antigenstelle durchgeführt. Dies gibt Aufschluss über die unspezifische Hintergrundfärbung auf jedem Objektträger. Der Objektträger wird nicht mit dem primären Antikörper, sondern mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbt, einem gereinigten nichtimmunogenen Kaninchen-IgG, das nicht mit humanen Proben reagiert. Wenn ein alternatives Reagenz als negative Kontrolle verwendet wird, wird dieses mit VENTANA Antibody Diluent auf die gleiche Verdünnung wie das primäre Antikörper-Antiserum gebracht. Der CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper enthält noch etwa 0.2 % fötales Kälberserum. Es ist auch möglich, VENTANA Antibody Diluent 0.2 % fötales Kälberserum zuzugeben und es als unspezifische negative Reagenzkontrolle zu verwenden. Die Inkubationsdauer für die negative Reagenzkontrolle sollte der für den primären Antikörper geltenden Inkubationsdauer entsprechen.

Wenn Panels mit mehreren Antikörpern auf Serienschnitten verwendet werden, kann eine negative Reagenzkontrolle auf einem Objektträger als negative Kontrolle oder als Kontrolle für unspezifische Hintergrundbindung für andere Antikörper dienen.

Assay-Verifizierung

Vor der erstmaligen Verwendung dieses Antikörpers in einem diagnostischen Verfahren oder bei einer Änderung der Chargennummer sollte die Spezifität des Antikörpers durch Färben einer Reihe von positiven und negativen Gewebe mit bekannten

Leistungsmerkmalen überprüft werden. Siehe hierzu die Qualitätskontrollverfahren, die weiter oben in dieser Produktbeilage beschrieben wurden, die Empfehlungen zur Qualitätskontrolle in der College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist und die CLSI Approved Guideline oder beide Dokumente.[16,17] Die Qualitätskontrollverfahren müssen für jede neue Antikörpercharge und bei jeder Änderung der Chargennummer eines der Reagenzien in einem abgestimmten Satz bzw. bei jeder Änderung der Assayparameter wiederholt werden. Die Qualitätskontrolle kann mit einem isolierten einzelnen Reagenz nicht aussagekräftig durchgeführt werden, da die abgestimmten Reagenzien zusammen mit einem definierten Assay-Protokoll gleichzeitig getestet werden müssen, bevor ein Kit für Diagnosezwecke verwendet wird. Für die Assay-Verifizierung sind die in der Zusammenfassung der erwarteten Ergebnisse aufgeführten Gewebe geeignet.

Alle Anforderungen an die Qualitätskontrolle sind im Einklang mit allen geltenden Vorschriften oder Akkreditierungsvorgaben einzuhalten.

AUSWERTUNG DER FÄRBUNG / ERWARTETE ERGEBNISSE

Das Färbeverfahren bewirkt, dass an den Stellen, an denen das Antigen von dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper lokalisiert wurde, ein farbiges Reaktionsprodukt ausfällt. Ein qualifizierter, mit IHC-Verfahren vertrauter Pathologe muss zunächst die positiven und negativen Gewebekontrollen auswerten und das gefärbte Produkt qualifizieren, bevor die Ergebnisse interpretiert werden können. Der Progesteronrezeptorstatus wird durch den Prozentsatz der gefärbten Tumorzellen bestimmt. Ein Fall gilt als PR-positiv, wenn in mindestens 1 % der Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorliegt.[9]

Positive Gewebekontrolle

Als erstes sollte die mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper gefärbte positive Gewebekontrolle überprüft werden, um sicherzustellen, dass alle Reagenzien korrekt funktionieren. Positive Reaktivität ist an dem Vorhandensein eines braunen Reaktionsprodukts (3,3'-Diaminobenzidintetrachlorid, DAB) im Zellkern der Zielzellen erkennbar. Ein Beispiel eines Gewebes, das als positive Kontrolle verwendet werden kann, ist das Gewebe eines bekanntermaßen schwach positiven Mammakarzinoms, bei dem z. B. der Zellkern von ≥ 1 % der Tumorzellen positiv sein sollte. Zur Vermeidung einer falsch-positiven Interpretation darf nur eine Zellkernfärbung als positiv betrachtet werden. Auch normale humane Gebärmutterschleimhaut ist geeignet. In der normalen Gebärmutterschleimhaut ist die PR-Färbung im Zellkern der endometrialen Drüsen und im Stroma vorhanden. Wenn mit den positiven Gewebekontrollen keine angemessene positive Färbung nachgewiesen werden kann, gelten alle Ergebnisse der Testproben als ungültig.

Negative Gewebekontrolle

Nach der positiven Gewebekontrolle sollte die negative Gewebekontrolle untersucht werden, um die spezifische Markierung des Zielantigens durch den primären Antikörper zu verifizieren. Das Fehlen einer spezifischen Färbung in der negativen Gewebekontrolle bestätigt das Fehlen einer Antikörper-Kreuzreaktivität mit Zellen oder Zellbestandteilen. Auch das als Positivkontrolle verwendete Mammakarzinom kann als negatives Kontrollgewebe verwendet werden. Bestimmte Bestandteile des Stromas, von denen bekannt ist, dass sie PR-negativ sind, zum Beispiel Endothelzellen, sollten keine Zellkernfärbung aufweisen. Wenn in der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung vorhanden ist, gelten die Ergebnisse mit der Patientenprobe als ungültig.

Sofern vorhanden, hat eine unspezifische Färbung ein diffuses Muster. In Gewebeschnitten, die sehr stark formalinfixiert sind, kann eine sporadische leichte Färbung des Bindegewebes festgestellt werden. Für die Interpretation der Färbeergebnisse sollten intakte Zellen verwendet werden, da nekrotische oder degenerierte Zellen häufig eine unspezifische Färbung zeigen.[18]

Patientengewebe

Die mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper gefärbten Patientenproben sollten zuletzt untersucht werden. Die Intensität der positiven Färbung sollte in Relation zu der unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle eingestuft werden. Der PR ist möglicherweise auch bei anderen Neoplasien festzustellen, beispielsweise bei Ovarial- und Endometriumkarzinomen.[19] Bei jeder Gewebeprobe sollte im Zusammenhang mit der Interpretation eines immunhistochemisches Ergebnisses auch die Morphologie unter Verwendung eines mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Schnitts untersucht werden. Die morphologischen Ergebnisse eines Patienten und die dazugehörigen klinischen Daten müssen von einem qualifizierten Pathologen ausgewertet werden. Spezifische Angaben zur Immunreaktivität sind den Abschnitten „Zusammenfassung und Erklärung", „Einschränkungen" und „Zusammenfassung der erwarteten Ergebnisse" zu entnehmen.

EINSCHRÄNKUNGEN

Allgemeine Einschränkungen

1. Die IHC ist ein aus mehreren Schritten bestehendes Diagnoseverfahren, das hinsichtlich der Wahl der geeigneten Reagenzien und Gewebeproben sowie bezüglich Fixierung, Aufbereitung und Präparation des Objektträgers für die Immunhistochemie und der Interpretation der Färbeergebnisse eine besondere Schulung erfordert.
2. Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor der Färbung ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder die Kontamination mit anderen Geweben oder mit Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können die Folge von Abweichungen bei Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder von dem Gewebe inhärenten Unregelmäßigkeiten sein.
3. Eine übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
4. Die klinische Interpretation einer positiven Gewebefärbung oder deren Fehlen muss im Kontext der klinischen Vorgeschichte, der Morphologie und sonstiger histopathologischer Kriterien erfolgen. Die klinische Interpretation einer eventuellen Färbung oder deren Fehlen muss durch morphologische Untersuchungen und geeignete Kontrollen sowie durch andere diagnostische Tests ergänzt werden. Dieser Antikörper ist für die Verwendung in einem Antikörperpanel bestimmt. Es liegt in der Verantwortung des qualifizierten Pathologen, zum Erhalt der gefärbten Präparate mit den zur Färbung verwendeten Antikörpern, Reagenzien und Methoden vertraut zu sein. Die Färbung muss in einem zertifizierten, lizenzierten Labor unter der Aufsicht eines Pathologen durchgeführt werden, der für die Überprüfung der gefärbten Objektträger sowie die Sicherstellung adäquater positiver und negativer Kontrollen verantwortlich ist.
5. Ventana liefert Antikörper und Reagenzien in der optimalen Konzentration zur Verwendung entsprechend der Gebrauchsanweisung. Abweichungen von den empfohlenen Testverfahren können die erwarteten Ergebnisse ungültig machen. Es müssen entsprechende Kontrollen durchgeführt und dokumentiert werden. Benutzer, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, tragen die Verantwortung für die Interpretation der Patientenergebnisse.
6. Dieses Produkt ist nicht auf die Anwendung in der Durchflusszytometrie ausgelegt, und es liegen keine Leistungsmerkmale vor.
7. Bei Gewebe, das im Vorfeld nicht getestet wurde, können unerwartete Reaktionen mit den verwendeten Reagenzien auftreten. Aufgrund der biologischen Variabilität der Antigenexpression in Neoplasien oder anderen pathologischen Geweben können unerwartete Reaktionen auch bei getesteten Gewebegruppen nicht vollkommen ausgeschlossen werden.[20] Wenn unerwartete Reaktionen dokumentiert werden, ist der zuständige Kundendienst zu benachrichtigen.
8. Gewebeproben von Personen mit Hepatitis-B-Infektion und mit dem Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) können mit Meerrettich-Peroxidase eine unspezifische Färbung aufweisen.[21]
9. Normalseren derselben tierischen Herkunft wie die sekundären Antiseren können bei Verwendung in Blockierungsschritten aufgrund von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern zu falsch-negativen oder falsch-positiven Ergebnissen führen.
10. Falsch-positive Ergebnisse können durch nicht immunologische Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten entstehen. Sie können je nach Art der verwendeten Immunfärbung auch durch Pseudoperoxidase-Aktivität (Erythrozyten), endogene Peroxidase-Aktivität (Cytochrom C) oder endogenes Biotin (Beispiel: Leber, Gehirn, Brust, Niere) verursacht werden.[18]
11. Wie bei jedem IHC-Test bedeutet ein negatives Ergebnis lediglich, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde, nicht jedoch, dass das Antigen in den untersuchten Zellen/Geweben nicht vorhanden war.

Spezifische Einschränkungen

1. In Kombination mit VENTANA Nachweiskits und Hilfsreagenzien erkennt der Antikörper Antigen, das auch nach routinemäßiger Formalinfixierung, Gewebeaufbereitung und Schneiden noch vorhanden ist. Benutzer, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, tragen die Verantwortung für die Interpretation und Validierung der Patientenergebnisse.

2. Ein negatives Ergebnis mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper schließt das Vorhandensein des PR nicht aus. Negative Ergebnisse in Mammakarzinomen können auf einen Verlust oder eine deutliche Abnahme der Antigenexpression zurückzuführen sein. Daher wird empfohlen, diesen Antikörper in einem Panel von Antikörpern, einschließlich solcher gegen den Estrogenrezeptor, zu verwenden.
3. In Tonsillengewebe wurde eine positive Zellkernfärbung mit dem Antikörperklon 1E2 festgestellt.[22] Tonsillengewebe ist nicht zur Anwendung mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper geeignet. Daher sollten, wenn ein Tonsillengewebe als negative Gewebekontrolle verwendet wird, Tonsillengewebe untersucht werden, um sicherzustellen, dass eine negative Färbung ausgewählt wird.

Es sind möglicherweise nicht alle Assays auf jedem Gerät registriert. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Roche-Vertreter vor Ort.

LEISTUNGSMERKMALE

ANALYTISCHE LEISTUNG

Es wurden Färbetests auf Sensitivität, Spezifität und Präzision durchgeführt; die Ergebnisse sind unten aufgeführt.

Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität und Spezifität des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers wurde durch Färbung mehrerer Fälle von normalem Humangewebe bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 und Tabelle 5 zusammengefasst. In allen Geweben außer in einem Fall (Ovarialgewebe) mit unerwarteter negativer Färbung war die positive Färbung im Zellkern lokalisiert. Wie bereits zuvor wurde eine positive Färbung von Schilddrüsengewebe festgestellt.[23] Tonsillengewebe zeigte eine positive Zellkernfärbung mit dem Antikörperklon 1E2.[22]

Tabelle 4. Die Sensitivität/Spezifität des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers wurden durch das Testen von normalem FFPE-Gewebe ermittelt.

Gewebe	Anzahl positiver / aller Fälle	Gewebe	Anzahl positiver / aller Fälle
Großhirn	0/5	Speiseröhre	0/3
Kleinhirn	0/3	Magen	0/3
Nebenniere	0/3	Dünndarm	0/3
Eierstock	2/3	Dickdarm	0/3
Bauchspeicheldrüse	3/3	Leber	0/3
Nebenschilddrüse	0/4	Speicheldrüse	0/3
Hirnanhangsdrüse	3/3	Niere	0/3
Hoden	0/3	Prostata	1/3
Schilddrüse	0/5	Blase	0/5
Brust [a]	4/4	Gebärmutterschleimhaut	1/3
Milz	1/3	Gebärmutterhals	8/8
Tonsille	1/3	Skelettmuskel	0/5
Thymus	0/3	Haut	0/3
Knochenmark	0/3	Nerv	0/3
Lunge	0/3	Mesothel	0/3
Herz	0/3		

[a] Zu den Geweben gehört auch faseriges Fettgewebe.

Die Immunreaktivität des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers wurde durch Färbung mehrerer Fälle von neoplastischen Humangeweben bestimmt. Ein Fall galt als PR-positiv, wenn in mindestens ≥ 1 % der invasiven Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorlag.

Tabelle 5. Die Sensitivität/Spezifität des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers wurden durch das Testen von verschiedenen neoplastischen FFPE-Geweben ermittelt.

Pathologie	Anzahl positiver / aller Fälle
Glioblastom (Cerebrum)	0/1
Meningeom (Cerebrum)	0/1
Ependymom (Cerebrum)	0/1
Oligodendrogliom (Kleinhirn)	0/1
Seröses Adenokarzinom (Ovarien)	1/1
Muzinöses Adenokarzinom (Ovarien)	0/1
Neuroendokrine Neoplasie (Pankreas)	1/1
Adenokarzinom (Pankreas)	0/1
Seminom (Hoden)	0/1
Embryonalkarzinom (Hoden)	0/1
Medulläres Karzinom (Schilddrüse)	1/1
Papilläres Karzinom (Schilddrüse)	0/1
Duktales Karzinom in situ (Brust)	1/1
Invasives duktales Karzinom (Brust)	0/1
B-Zell-Lymphom; NOS (Milz)	0/1
Kleinzelliges Karzinom (Lunge)	0/1
Plattenepithelkarzinom (Lunge)	0/1
Adenokarzinom (Lunge)	0/1
Plattenepithelkarzinom (Ösophagus)	0/1
Adenokarzinom (Ösophagus)	0/1
Muzinöses Adenokarzinom (Magen)	0/1
Adenokarzinom (Darm)	0/1
Adenokarzinom (Kolon)	0/1
Maligne mesenchymale Mischneoplasie (Kolon)	0/1
Adenokarzinom (Rektum)	0/1
Maligne mesenchymale Mischneoplasie (Rektum)	0/1
Melanom (Rektum)	0/1
Hepatozelluläres Karzinom (Leber)	0/1
Hepatoblastom (Leber)	0/1
Klarzellkarzinom (Niere)	0/1
Adenokarzinom (Prostata)	1/1
Urothelkarzinom (Prostata-Urethra)	1/1
Leiomyom (Uterus)	1/1
Adenokarzinom (Uterus)	1/2
Klarzellkarzinom (Uterus)	0/1
Plattenepithelkarzinom (Zervix)	1/1
Embryonales Rhabdomyosarkom (quergestreifte Muskulatur)	0/1
Plattenepithelkarzinom (quergestreifte Muskulatur)	0/1
Basalzellkarzinom (Haut)	0/1
Neurofibrom (Mediastinum)	1/1

Pathologie	Anzahl positiver / aller Fälle
Neuroblastom (Retroperitoneum)	1/1
Mesotheliom (Peritoneum)	0/1
Hodgkin-Lymphom (Lymphknoten)	0/1
Lymphom, NOS (Lymphknoten)	0/2
B-Zell-Lymphom, NOS (Lymphknoten)	0/1
Urothelkarzinom (Blase)	0/1

Die Sensitivität ist von der Erhaltung des Antigens abhängig. Unsachgemäße Handhabung des Gewebes beim Fixieren, Schneiden, Einbetten oder Aufbewahren führt zu einer Veränderung der Antigenität, was den PR-Nachweis mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper abschwächt und zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann.

Präzision auf dem BenchMark XT und BenchMark ULTRA Gerät

Im Rahmen der Tests der Wiederholpräzision wurden sechs individuelle Gewebefälle gefärbt. Von den sechs Geweben wiesen zwei eine hohe PR-Expression und zwei eine niedrige PR-Expression auf und zwei waren PR-negativ, basierend auf folgenden Grenzwerten: < 1 % gefärbte Tumorzellen bei negativer Expression, 1-10 % gefärbte Tumorzellen bei schwacher Expression und > 10 % gefärbte Tumorzellen bei hoher Expression.

Für den Test der Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs wurden 9 Objektträger jedes Falls mit CONFIRM anti-PR (1E2) und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf einem BenchMark XT Gerät gefärbt. Dieselbe Testkonfiguration wurde auch auf einem BenchMark ULTRA Gerät durchgeführt. Die Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper war sowohl auf dem BenchMark XT als auch auf dem BenchMark ULTRA Gerät auf allen positiven Geweben aller sechs Fälle zu 100 % konkordant.

Für den Test der Inter-Tages-Laborpräzision wurden in fünf separaten, nicht aufeinander folgenden Läufen, die in einem Zeitraum von 20 Tagen durchgeführt wurden, vier Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf demselben BenchMark XT Gerät gefärbt. Dieselbe Testkonfiguration wurde auch auf einem BenchMark ULTRA Gerät durchgeführt. Die Inter-Tages-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper war sowohl auf dem BenchMark XT als auch auf dem BenchMark ULTRA Gerät auf allen positiven Geweben aller sechs Fälle zu 100 % konkordant.

Für den Test der Inter-Geräte-Laborpräzision auf BenchMark XT Geräten wurden 4 Objektträger von sechs Fällen auf drei separaten BenchMark XT Geräten mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper gefärbt. Jeweils ein einzelner Objektträger jedes Falls wurde mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper gefärbt. Die Inter-Geräte-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf drei BenchMark XT Geräten war bei allen sechs Fällen zu 100 % konkordant.

Für den Test der Inter-Geräte-Laborpräzision auf BenchMark ULTRA Geräten wurden 4 Objektträger von sechs Fällen auf drei separaten BenchMark ULTRA Geräten mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper gefärbt. Jeweils ein einzelner Objektträger jedes Falls wurde mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper gefärbt. Die Inter-Geräte-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf drei BenchMark ULTRA Geräten war bei allen sechs Fällen zu 100 % konkordant.

Alle Tests der Reproduzierbarkeit erfüllten die Akzeptanzkriterien für ein Bestehen des Tests.

Präzision auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät

Im Rahmen der Präzisionstests wurden neun individuelle Gewebefälle gefärbt. Von den neun Geweben wiesen drei eine hohe PR-Expression und drei eine niedrige PR-Expression auf und drei waren PR-negativ, basierend auf folgenden Grenzwerten: < 1 % gefärbte Tumorzellen bei negativer Expression, 1-10 % gefärbte Tumorzellen bei niedriger Expression und > 10 % gefärbte Tumorzellen bei hoher Expression.

Für den Test der Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs wurden fünf Objektträger jedes Falls mit CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf einem BenchMark ULTRA PLUS Gerät gefärbt. Die Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät war zu 100 % konkordant. Mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbte Objektträger waren im Hinblick auf das Signal und den Hintergrund akzeptabel.

Für den Test der Inter-Tages-Laborpräzision wurden in fünf separaten, nicht aufeinander folgenden Läufen, die in einem Zeitraum von 20 Tagen durchgeführt wurden, zwei Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper und ein Objektträger jedes Falls mit dem CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper auf demselben BenchMark ULTRA PLUS Gerät gefärbt. Die Inter-Tages-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf drei BenchMark ULTRA PLUS Geräten war zu 97.8 % konkordant. Mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig gefärbte Objektträger waren im Hinblick auf das Signal und den Hintergrund akzeptabel.

Für den Test der Inter-Geräte-Laborpräzision auf BenchMark ULTRA PLUS Geräten wurden zwei Objektträger von jedem Fall auf drei separaten BenchMark ULTRA PLUS Geräten mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper gefärbt. Jeweils ein einzelner Objektträger jedes Falls wurde mit CONFIRM Negative Control Rabbit Ig Antikörper gefärbt. Die Inter-Geräte-Laborpräzision mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf drei BenchMark ULTRA PLUS Geräten war zu 98.1 % konkordant.

Inter-Labor-Reproduzierbarkeit

Unter Verwendung von 14 Objektträgern mit Mammakarzinomproben (8 positive, 2 schwach positive, 4 negative) auf 3 BenchMark XT Geräten und 3 BenchMark ULTRA Geräten mit Nachweis mittels *i*VIEW DAB und *ultra*View Universal DAB Detection Kit wurde an jedem von 5 nicht aufeinanderfolgenden Tagen in einem Zeitraum von mindestens 20 Tagen in 3 externen Labors eine Untersuchung der Inter-Labor-Reproduzierbarkeit mit CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper durchgeführt. Die Proben wurden randomisiert und insgesamt 6 Pathologen (2 Pathologen pro Einrichtung) bestimmten den Prozentsatz der gefärbten Tumorzellen. Ein Fall galt als PR-positiv, wenn in mindestens 1 % der invasiven Tumorzellen eine Färbung des Zellkerns vorlag.[9]

Was die Inter-Labor-Präzision anbelangt, betrugen die durchschnittliche positive Übereinstimmung (APA) und die durchschnittliche negative Übereinstimmung (ANA) zur klinischen Beurteilung des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers 99.7 % bzw. 99.1 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *i*VIEW; 98.6 % bzw. 95.4 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *ultra*View Universal DAB Detection Kit; 99.4 % bzw. 98.4 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *i*VIEW und 97.4 % bzw. 91.3 % auf dem BenchMark XT Gerät mit *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Was die Inter-Tages-Präzision anbelangt, betrugen die APA und die ANA zur klinischen Beurteilung des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers 99.7 % bzw. 99.1 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *i*VIEW; 98.5 % bzw. 95.5 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *ultra*View Universal DAB Detection Kit; 99.3 % bzw. 98.3 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *i*VIEW und 97.0 % bzw. 90.8 % auf dem BenchMark XT Gerät mit *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Was die Inter-Ableser-Präzision anbelangt, betrugen die APA und die ANA zur klinischen Beurteilung des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers 99.7 % bzw. 99.1 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *i*VIEW; 98.6 % bzw. 95.6 % auf dem BenchMark ULTRA Gerät mit Nachweis mittels *ultra*View Universal DAB Detection Kit; 99.3 % bzw. 98.3 % auf dem BenchMark XT Gerät mit Nachweis mittels *i*VIEW und 98.6 % bzw. 95.1 % auf dem BenchMark XT Gerät mit *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Für die Inter-Plattform-Präzision über die BenchMark ULTRA und BenchMark XT Geräte hinweg betrugen die APA und die ANA 99.5 % bzw. 98.7 % beim Nachweis mittels *i*VIEW und 98.0 % bzw. 93.9 % bei Verwendung des *ultra*View Universal DAB Detection Kit.

Für die Intra-Plattform-Präzision betrugen die APA und die ANA 98.7 % bzw. 96.4 % für das BenchMark ULTRA Gerät und 97.4 % bzw. 92.6 % für das BenchMark XT Gerät.

Vergleich zwischen *i*VIEW DAB Detection Kit und *ultra*View Universal DAB Detection Kit mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper.

Für einen Vergleich von Nachweiskits zwischen zwei Geräten (BenchMark XT und BenchMark ULTRA Gerät) wurden CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper sowie *i*VIEW DAB Detection Kit und *ultra*View Universal DAB Detection Kit verwendet. Im Rahmen der Tests wurden einhundertneunundneunzig Gewebefälle verwendet. Von den Fällen waren etwa die Hälfte positiv und die Hälfte negativ als Funktion der gefärbten Tumorzellen. Die gefärbten Objektträger wurden von Pathologen beurteilt, die den Prozentsatz der gefärbten Tumorzellen bestimmten. Ein Fall galt als PR-positiv, wenn in mindestens 1 % der Tumorzellen eine Zellkernfärbung vorlag.

Die Rate der morphologischen Akzeptanz und der Hintergrundakzeptanz betrug mit beiden Nachweiskits und Geräten 100 %, außer bei Verwendung von *ultra*View Universal DAB Detection Kit auf dem BenchMark ULTRA Gerät, bei der sich eine Rate der Hintergrundakzeptanz von 99.5 % ergab. Direktvergleiche zwischen Nachweiskits zur positiven und negativen klinischen Beurteilung auf jeder Plattform sind in Tabelle 6 für das BenchMark ULTRA Gerät und in Tabelle 7 für das BenchMark XT Gerät angegeben.

Tabelle 6. Klinische Beurteilung von *ultra*View Universal DAB Detection Kit im Vergleich zu *i*VIEW DAB Detection Kit auf dem BenchMark ULTRA Gerät.

*ultra*View Universal DAB Detection Kit	iVIEW DAB Detection Kit		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	94	11	105
Negativ	2	86	88
Gesamt	96	97	193
	n/N	% (95 %-KI)	
Positive prozentuale Übereinstimmung	94/96	97.9 (92.7-99.4)	
Negative prozentuale Übereinstimmung	86/97	88.7 (80.8-93.5)	
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	180/193	93.3 (88.8-96.0)	

Tabelle 7. Klinische Beurteilung von *ultra*View Universal DAB Detection Kit im Vergleich zu *i*VIEW DAB Detection Kit auf dem BenchMark XT Gerät.

*ultra*View Universal DAB Detection Kit	iVIEW DAB Detection Kit		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	91	14	105
Negativ	2	86	88
Gesamt	93	100	193
	n/N	% (95 %-KI)	
Positive prozentuale Übereinstimmung	91/93	97.8 (92.5-99.4)	
Negative prozentuale Übereinstimmung	86/100	86.0 (77.9-91.5)	
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	177/193	91.7 (87.0-94.8)	

Die Übereinstimmung der klinischen Beurteilung beim Vergleich zwischen Nachweiskits auf den beiden Geräten lag bei über 90 %, d. h. bei 93.3 % (n = 193) auf dem BenchMark ULTRA Gerät und 91.7 % (n = 193) auf dem BenchMark XT Gerät. Was die Beurteilung der Färbung anbelangt, ergab sich zwischen *ultra*View Universal DAB Detection Kit und *i*VIEW DAB Detection Kit eine Übereinstimmungsrate von 90.2 % (n = 193) bzw. 85.5 % (n = 193).

Vergleich zwischen dem BenchMark ULTRA und dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät

In einer Studie wurde die Färbeleistung des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät und auf dem BenchMark ULTRA Gerät verglichen. Einhundertvierunddreißig (134) Mammakarzinom-Gewebefälle (davon 61 PR-positiv, 61 PR-negativ und 12 grenzwertig PR-positiv), die den klinischen Bereich des Assays repräsentierten. Die gefärbten Objektträger wurden von Pathologen beurteilt, die den Prozentsatz der gefärbten Tumorzellen bestimmten. Ein Fall galt als PR-positiv, wenn in mindestens ≥ 1 % der invasiven Tumorzellen eine Färbung des Zellkerns vorlag.[9] Der direkte Vergleich für den positiven und negativen PR-Status zwischen dem BenchMark ULTRA Gerät und dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät ist in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8. CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät und CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA Gerät (ausgenommen grenzwertig positive Fälle).

BenchMark ULTRA PLUS Gerät	BenchMark ULTRA Gerät		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	79	2	81
Negativ	6	23	29
Gesamt	85	25	110
	n/N	% (95 %-KI)	
Positive prozentuale Übereinstimmung	79/85	92.9 (85.4-96.7)	
Negative prozentuale Übereinstimmung	23/25	92.0 (75.0-97.8)	
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	102/110	92.7 (86.3-96.3)	

Die Rate der morphologischen Akzeptanz für alle in dieser Studie gefärbten Objektträger betrug für das BenchMark ULTRA PLUS Gerät 100.0 % (95 %-KI: 97.2 %-100.0 %). Die Rate der Hintergrundakzeptanz betrug für das BenchMark ULTRA PLUS Gerät 100.0 % (95 %-KI: 97.2 %-100.0 %).

KLINISCHE LEISTUNG

Vergleich des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers mit FLEX anti-PR (PgR 636).

In einer randomisierten, multizentrischen Studie mit mehreren Ablesern wurde die Färbeleistung des CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörpers auf dem BenchMark ULTRA Gerät und auf dem BenchMark XT Gerät mit der von Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR (PgR 636)) auf dem Dako Autostainer Plus verglichen. Auf den BenchMark IHC/ISH Geräten wurde endogenes Biotin mithilfe des VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit blockiert. Für den Antikörpernachweis wurde *i*VIEW DAB Detection Kit verwendet. Auf der Dako Plattform erfolgte der Antikörpernachweis mit EnVision Flex, High pH. Etwa 120 negative und 216 positive Fälle von Brustkrebs, die den klinischen Bereich des Assays repräsentierten, wurden durch Randomisierung drei Prüfzentren zugewiesen, sodass jede Einrichtung die gleiche Anzahl von Fällen erhielt und die jeweiligen Fälle alle klinischen Beurteilungskategorien repräsentierten. An jedem Prüfzentrum wurden die zugeteilten Fälle mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf einem BenchMark ULTRA Gerät, mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf einem BenchMark XT Gerät und mit FLEX anti-PR (PgR 636) auf einem Dako Autostainer Plus gefärbt. Die gefärbten Objektträger wurden von Pathologen beurteilt, die den Prozentsatz der gefärbten Tumorzellen bestimmten. Ein Fall galt als PR-positiv, wenn in mindestens ≥ 1 % der invasiven Tumorzellen eine Färbung des Zellkerns vorlag.[9]

Tabelle 9. CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA Gerät im Vergleich zu FLEX anti-PR (PgR 636) auf dem Dako Autostainer Plus.

CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	200	7	207
Negativ:	9	104	113
Gesamt:	209	111	320
	n/N	% (95 %-KI)	
Positive prozentuale Übereinstimmung	200/209	95.7 (92.0-97.7)	
Negative prozentuale Übereinstimmung	104/111	93.7 (87.6-96.9)	
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	304/320	95.0 (92.0-96.9)	

Tabelle 10. CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark XT Gerät im Vergleich zu FLEX anti-PR (PgR 636) auf dem Dako Autostainer Plus.

CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	186	9	195
Negativ:	18	100	118
Gesamt:	204	109	313
	n/N	% (95 %-KI)	
Positive prozentuale Übereinstimmung	186/204	91.2 (86.5-94.3)	
Negative prozentuale Übereinstimmung	100/109	91.7 (85.0-95.6)	
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	286/313	91.4 (87.7-94.0)	

Die Rate der positiven Übereinstimmung, der negativen Übereinstimmung und der Gesamtübereinstimmung (gepoolte Daten aller Prüfzentren) beim Vergleich der Färbung mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA und dem BenchMark XT Gerät mit der Färbung mit FLEX anti-PR (PgR 636) auf dem Dako Autostainer Plus betrug jeweils über 90 %.

Tabelle 11. CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA Gerät im Vergleich zu CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark XT Gerät.

BenchMark ULTRA Gerät	BenchMark XT Gerät		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	184	12	196
Negativ:	6	105	111
Gesamt:	190	117	307
	n/N	% (95 %-KI)	
Positive prozentuale Übereinstimmung	184/190	96.8 (93.3-98.5)	
Negative prozentuale Übereinstimmung	105/117	89.7 (82.9-94.0)	
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	289/307	94.4 (90.9-96.3)	

Was die Färbung mit dem CONFIRM anti-PR (1E2) Antikörper auf dem BenchMark ULTRA Gerät verglichen mit dem BenchMark XT Gerät anbelangt, lag die Rate der positiven Übereinstimmung, der negativen Übereinstimmung und der Gesamtübereinstimmung jeweils über 89 %.

Die Rate der morphologischen Akzeptanz für alle in dieser Studie gefärbten Objektträger betrug für das BenchMark ULTRA Gerät 99.7 % (95 %-KI: 98.3 %-99.9 %) und für das BenchMark XT Gerät 96.1 % (95 %-KI: 93.5 %-97.7 %). Die Rate der Hintergrundakzeptanz betrug für das BenchMark ULTRA Gerät 99.4 % (95 %-KI: 97.9 %-99.8 %) und für das BenchMark XT Gerät 95.2 % (95 %-KI: 92.4 %-97.0 %).

FEHLERBEHEBUNG

1. Wenn die positive Kontrolle eine schwächere Färbung als erwartet aufweist, sind die anderen, parallel verwendeten positiven Kontrollen zu überprüfen, um festzustellen, ob dies auf den primären Antikörper oder eines der üblichen sekundären Reagenzien zurückzuführen ist.
2. Wenn die positive Kontrolle negativ ist, ist zu überprüfen, ob der Objektträger das richtige Barcode-Etikett aufweist. Wenn der Objektträger ordnungsgemäß gekennzeichnet ist, sind die anderen, parallel verwendeten positiven Kontrollen zu überprüfen, um festzustellen, ob das Ergebnis auf den primären Antikörper oder eines der üblichen sekundären Reagenzien zurückzuführen ist. Das Gewebe wurde möglicherweise nicht ordnungsgemäß gewonnen, fixiert oder entparaffinisiert. Es sind die korrekten Verfahren zur Gewinnung, Aufbewahrung und Fixierung von Gewebe zu befolgen.
3. Bei übermäßiger Hintergrundfärbung sind möglicherweise hohe Mengen an endogenem Biotin vorhanden. In diesem Fall sollte ein Biotinblockierungsschritt durchgeführt werden.
4. Wenn nicht das gesamte Paraffin entfernt wurde, muss die Entparaffinisierung wiederholt werden.
5. Wenn die spezifische Antikörperfärbung zu intensiv ist, wird der Lauf mit einer um 4 Minuten kürzeren Inkubationszeit des primären Antikörpers wiederholt, um die gewünschte Färbungsintensität zu erreichen.
6. Wenn sich Gewebeschnitte beim Waschen vom Objektträger ablösen, sind die Objektträger zu überprüfen, um sicherzustellen, dass sie positiv geladen sind.
7. Bezüglich der Fehlerbehebung ist der Abschnitt „Schrittweises Vorgehen“ oder das Benutzerhandbuch des Geräts zu beachten oder der zuständige Kundendienst zu kontaktieren.

LITERATURANGABEN

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.

HINWEIS: In diesem Dokument wird statt einem Komma ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet, um die Vorkomma- von den Nachkommastellen zu trennen. Es werden keine Tausendertrennzeichen verwendet.

Eine Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung ist verfügbar auf:

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

Symbole

Ventana verwendet die folgenden Symbole und Zeichen zusätzlich zu den Symbolen und Zeichen gemäß Norm ISO 15223-1 (für die USA: elabdoc.roche.com/symbols für weitere Informationen).

GTIN	Globale Artikelidentnummer
Rx only	Für die USA: Vorsicht Der Verkauf dieses Produkts ist laut Bundesgesetz nur durch einen Arzt oder auf Anordnung eines Arztes zulässig.

VERSIONSVERLAUF

Rev.	Aktualisierungen
H	Korrektur zu Verweis auf Tabelle 8. Umstellung auf die aktuelle Vorlage.

GEISTIGES EIGENTUM

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM und ULTRAVIEW sind Marken von Roche. Alle sonstigen Produktnamen und Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTDATEN

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