

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

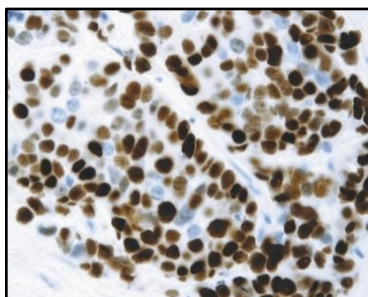
REF 790-2223  50

05277990001

REF 790-4296  250

05278392001

IVD



Фиг. 1. Оцветяване с антитяло
CONFIRM anti-PR (1E2) на дуктален
карцином на гърдата.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody е предназначено за лабораторна употреба при качествено откриване на антиген на прогестеронов рецептор (PR) в срезове от фиксирана с формалин тъкан в парафин на автоматизиран апарат за оцветяване на предметни стъкла VENTANA с комплекти за откриване и спомагателни реактиви VENTANA. CONFIRM anti-PR (1E2) е насочен срещу епитоп, който се намира на човешкия протеин

прогестеронов рецептор, намиращ се в ядрата на положителните за PR нормални и неопластични клетки. CONFIRM anti-PR (1E2) е посочено като помощно средство при лечението, прогнозата и предвиждането на хормонална терапия на карцином на гърдата.

Този продукт трябва да се интерпретира от квалифициран патолог във връзка с хистологично изследване, съответна клинична информация и подходящи контроли.

Употреба само по предписание.

Това антитяло е предназначено за in vitro диагностична (IVD) употреба.

РЕЗЮМЕ И ОБЯСНЕНИЕ

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (антитяло CONFIRM anti-PR (1E2)) е заешко моноклонално антитяло, което разпознава А и В изоформите на човешкия прогестеронов рецептор (PR). Имуногенът е разработен от синтетичен пептид, идентифициран като област на потенциално силна антигенност, обичайна за прогестерон рецептор форми А и В. Пептидът е синтезиран и ковалентно свързан с хемоцианин, извлечен от Keyhole limpet, за да се увеличи допълнително антигенността. Показано е, че антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) реагира с протеини 60 kD, 87 kD и 110 kD от клетки T47D чрез Western blotting. Размерите на протеина са в съответствие с предвиденото молекулно тегло на формите А, В и С на прогестероновия рецептор.¹

PR е ядрен хормонален рецептор, кодиран от един ген (PGR).^{1,2} Активността на PR се регулира от тясно свързания ядрен хормонален естрогенен рецептор (ER). Координираните действия на ER и PR стимулират нормалното развитие на млечната жлеза и са необходими за диференциацията и пролиферацията на епитела на гърдата на възрастен пациент.^{1,2,3}

Ракът на гърдата е водеща причина за смъртността, свързана с ракови заболявания, при жените.⁴ Диагнозата и лечението на заболяването разчитат на ранно откриване, съчетано с надеждна стратегия за стратифициране на пациентите за подходяща терапия въз основа на прогностични и прогнозни фактори.^{5,6} Доказателите се диагностични изследвания за рак на гърдата са комбинация от физикален преглед, образна диагностика и патологична оценка.⁵

ER е един от парадигмалните туморни маркери за контрол на пациентите с рак на гърдата. Клиничните насоки и препоръките за най-добри практики сочат, че статусът за ER трябва да се оценява във всеки случай на първичен инвазивен рак на гърдата, за да се идентифицират пациенти, които най-вероятно ще реагират на

ендокринни форми на терапия.^{5,6} Селективните модулатори на естрогенните рецептори блокират растежа на естроген медирания рак чрез смекчаване на хиперактивността на ER и се използват като ендокринна терапия за пациенти, свърхекспресиращи рецептора.^{6,7}

На практика почти половината от положителните за ER пациенти не реагират на ендокринно лечение, което е феномен, свързан със злокачествената трансформация на рецептора в раковите лезии.⁸ Свърхекспресията на PR може да се използва за допълнително характеризиране на тумора на гърдата и за прогнозиране на терапевтичния отговор, като действа като репортер за оценка на функционалния статус на ER.^{8,9} През 1975 г. беше изказана хипотеза, че свърхекспресията на PR може да бъде прогнозен маркер за отговор на ендокринна терапия.⁸ Последващи проучвания потвърдиха прогнозната и прогностичната стойност на PR.^{10,11} По-високо ниво на експресия на PR е индикатор за по-добър отговор на ендокринна терапия.¹⁰

Откриването на PR е фундаментален фактор при контрола на пациенти с инвазивен карцином на гърдата.^{5,6,9} Насоките и препоръките за най-добра практика подчертават, че имунохистохимията (IHC) е предпочитан метод за откриване на PR при рак на гърдата.⁹ Поради това откриването на PR чрез IHC с антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) може да се използва като помощно средство при контрола, прогнозирането и предвиждането на изхода от терапията за карцином на гърдата.

ПРИНЦИП НА ПРОЦЕДУРАТА

Антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) се свързва с PR в тъканини срезове от фиксирана с формалин тъкан в парафин (FFPE). Специфичното антитяло може да бъде локализирано чрез рецептура на конюгирано с биотин вторично антитяло, което разпознава заешки имуноглобулини, последвано от добавяне на конюгат на стрептавидин и хрянова пероксидаза (HRP) (VIEW DAB Detection Kit) или конюгат на вторично HRP антитяло (ultraView Universal DAB Detection Kit). Специфичният комплекс антитяло-ензим след това се визуализира с реакционен продукт на ензимна преципитация.

Клиничните случаи трябва да се оценяват в контекста на изпълнението на подходящи контроли. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) препоръчва включването на положителна тъканна контрола, фиксирана и обработена по същия начин като пробата от пациента (например слабо положителен карцином на гърдата или матката). В допълнение към оцветяване с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) второ предметно стъкло трябва да се оцвети с CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. За да се счита тестът за валиден, положителната контролна тъкан трябва да показва ядрено оцветяване на туморните клетки или маточните жлези и стромата. Тези компоненти трябва да бъдат негативни при оцветяване с CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Освен това се препоръчва да се направи предметно стъкло с отрицателна тъканна контрола (например отрицателен за PR карцином на гърдата), което да се включи за всяка партида обработвани проби, пускани на инструмента BenchMark IHC/ISH. Тази отрицателна тъканна контрола трябва да бъде оцветена с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2), за да се гарантира, че усилването на антигена и други процедури за предварителна обработка не създават фалшиво положително оцветяване.

ПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) (кат. номер 790-2223) съдържа достатъчно реактив за 50 теста.

Един дозатор от 5 mL с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) съдържа приблизително 5 µg заешко моноклонално антитяло, насочено срещу човешки антиген на PR.

Антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) (кат. номер 790-4296) съдържа достатъчно реактив за 250 теста.

Един дозатор от 25 mL с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) съдържа приблизително 25 µg заешко моноклонално антитяло, насочено срещу човешки антиген на PR.

Антитялото е разредено в Tris-HCl с транспортен протеин и консервант 0.1 % ProClin 300. В готовия разтвор има следи (~ 0.2 %) от фетален телешки серум с произход от САЩ.

Специфичната концентрация на антитялото е приблизително 1 µg/mL. Не е известна неспецифична реактивност на антитяло, наблюдавана в този продукт.

Антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) е заешко моноклонално антитяло, получено като супернатанта на клетъчна култура.

Вижте листовката за съответния метод на комплекта за откриване VENTANA за подробно описание на: Принцип на процедурата, Материал и методи, Взимане на

проби и подготовка за анализ, Процедури за контрол на качеството, Отстраняване на неизправности, Интерпретиране на резултатите и Ограничения.

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Не са предоставени оцветяващи реактиви, като напр. комплекти за откриване VENTANA и спомагателни компоненти, включително предметни стъкла с отрицателни и положителни тъкани контроли.

Някои от продуктите, изброени в листовката за метода, могат да липсват в някои географски райони. Консултирайте се с местния представител за поддръжка.

Следните реактиви и материали може да са необходими за оцветяване, но да не са предоставени:

1. Препоръчителна контролна тъкан
2. Предметни стъкла за микроскоп, заредени положително
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (кат. номер 760-1029 / 05266238001)
4. View DAB Detection Kit (кат. номер 760-091 / 05266157001)
5. Endogenous Biotin Blocking Kit (кат. номер 760-050 / 05266092001)
6. ultraView Universal DAB Detection Kit (кат. номер 760-500 / 05269806001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (кат. номер 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (кат. номер 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (кат. номер 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (кат. номер 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning 1 (CC1) (кат. номер 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (кат. номер 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (кат. номер 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (кат. номер 760-2037 / 05266769001)
15. Инструмент BenchMark IHC/ISH
16. Лабораторно оборудване с общо предназначение

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

При получаване и когато не се използва, съхранявайте при 2–8 °C. Не замразявайте.

За да осигурите правилното доставяне на реактива и стабилността на анти тялото, сменяйте капачката на дозатора след всяка употреба и веднага поставяйте дозатора в хладилника в изправено положение.

Всеки дозатор с анти тяло е с обозначен срок на годност. Когато се съхранява правилно, реактивът е стабилен до датата, посочена на етикета. Не използвайте реактива след срока на годност.

ПОДГОТОВКА НА ПРОБАТА

Рутинно обработени FFPE са подходящи за употреба с това първично анти тяло при използване с комплекти за откриване VENTANA и инструменти BenchMark IHC/ISH. За обработка на проби се препоръчват следните стъпки.¹²

Поставете пробата в 10 % неутрален буфериран формалин. Използваното количество е 15 до 20 пъти обемът на тъканта. Никой фиксатор няма да проникне в повече от 2 до 3 mm солидна тъкан или 5 mm пореста тъкан за период от 24 часа. Тъканен срез от 3 mm или по-малък трябва да бъде фиксиран за не по-малко от 4 часа и за не повече от 8 часа. Фиксирането може да се извърши при стайна температура (15–25 °C).

След фиксиране пробата се поставя в инструмент за обработка на тъкани за подготовка за една нощ. Накратко, тази обработка се състои в дехидратация на пробата с алкохоли, последвана от изчистващи реактиви за отстраняване на алкохолите и накрая инфилтрация с парафин.

Пробите се враждат с парафин в тъкани касети и срезове с дебелина приблизително 4 µm се нарязват, центрират и вземат върху предметни стъкла. Предметните стъкла трябва да бъдат Superfrost Plus или еквивалентни. Тъканта трябва да се изсуши на въздух чрез поставяне на предметните стъкла при стайна температура за една нощ или поставяне в пещ при 60 °C за 30 минути.

Предметните стъкла трябва да се оцветяват незабавно, тъй като антигенността на срезовите тъкани участъци може да намалее с времето. Попитайте Вашия представител на Roche за копие от „Recommended Slide Storage and Handling“ за повече информация.

Препоръчва се едновременно с неизвестни проби да се провеждат положителни и отрицателни контроли.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. За in vitro диагностична (IVD) употреба.
2. Само за професионална употреба.
3. Не използвайте за повече от определения брой тестове.
4. В този реактив разтворът ProCin 300 се използва като консервант. Той е класифициран като иритант и може да причини сенсibiliзация при контакт с кожата. При работа вземете разумни предпазни мерки. Избягвайте контакт на реактивите с очите, кожата и лигавиците. Използвайте защитно облекло и ръкавици.
5. Този продукт съдържа 1 % или по-малко говежди серум, който се използва за производството на анти тялото.
6. Положително заредените предметни стъкла могат да бъдат податливи на въздействията на околната среда, което да доведе до неподходящо оцветяване. Попитайте представител на Roche за повече информация относно употребата на този тип предметни стъкла.
7. Материалите от човешки или животински произход трябва да се третират като биологично опасни материали и да се изхвърлят при подходящи предпазни мерки. В случай на експозиция трябва да се спазват здравните директиви на отговорните органи.^{13,14}
8. Избягвайте контакт на реактивите с очите и лигавиците. Ако реактивите влязат в контакт с чувствителни зони, измийте обилно с вода.
9. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, тъй като това може да доведе до неправилни резултати.
10. За допълнителна информация относно употребата на това изделие вижте Ръководство на потребителя за инструмента BenchMark IHC/ISH, както и инструкциите за използване на всички необходими компоненти, на адрес navifyportal.roche.com.
11. Консултирайте се с местните и/или държавните органи относно препоръчания метод за изхвърляне.
12. Етикетването за безопасност на продуктите следва основно насоките на ЕС за GHS. Информационен лист за безопасност е на разположение на професионалния потребител при поискване.
13. За да съобщите подозирани сериозни инциденти, свързани с това изделие, свържете се с местния представител на Roche и компетентния орган на държавата членка или държавата, в която е установен потребителят.

Този продукт съдържа компоненти, класифицирани, както следва, в съответствие с Регламент (ЕО) № 1272/2008:

Таб. 1. Информация за опасност.

Опасност	Код	Изявление
	H317	Може да причини алергична кожна реакция.
	H412	Вредно за водните организми с дълготрайни ефекти.
	P261	Избягвайте вдишване на мъгла или пари.
	P273	Избягвайте изпускането в околната среда.
	P280	Носете защитни ръкавици.
	P333 + P313	При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ.
	P362 + P364	Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.
	P501	Изхвърлете съдържанието/контейнера в одобрено депо за обезвреждане на отпадъци.

Този продукт съдържа CAS # 55965-84-9, реакционна маса от: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

ПРОЦЕДУРА НА ОЦВЕТЯВАНЕ

Първичните антители VENTANA са разработени за употреба на инструмента BenchMark IHC/ISH в комбинация с комплекти за откриване и аксесоари VENTANA. Вижте Таб. 2 и Таб. 3 по-долу за препоръчителните протоколи за оцветяване.

Това анти тяло е оптимизирано за специфично време на инкубация, но потребителят трябва да потвърди резултатите, получени с този реактив.

Параметрите за автоматизираните процедури може да бъдат показани, отпечатани и редактирани в съответствие с процедурата в Ръководство на потребителя за инструмента. Вижте листовката за съответния метод на комплекта за откриване VENTANA за повече подробности относно процедурите за оцветяване с имунохистохимия.

За повече подробности относно правилната употреба на това изделие вижте листовката за метод за вграден дозатор, свързана с P/N 790-4509 или 790-4296.

Проверката и валидирането на препоръчания протокол за оцветяване за всеки комплект за откриване се демонстрира чрез контролни тестове по определен дизайн и резултатите от клинични проучвания.

Всяка промяна в препоръчаната процедура за оцветяване анулира работните характеристики, представени в тази листовка за метода. Потребителят трябва да валидира всяка промяна в препоръчаната процедура за оцветяване.

Таб. 2. Препоръчителен протокол за оцветяване за анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) с *ultraView Universal DAB Detection Kit* на инструменти BenchMark IHC/ISH.

Тип на процедурата	Метод	
	XT	ULTRA или ULTRA PLUS
Депарафинизация	Избрана	Избрана
Cell Conditioning (разкриване на антиген)	CC1, стандарт	ULTRA CC1, стандартно
Анти тяло (първично)	16 минути, 37 °C	16 минути, 36 °C
Контраст (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 минути	Hematoxylin II, 4 минути
След контраст	Bluing, 4 минути	Bluing, 4 минути

Таб. 3. Препоръчителен протокол за оцветяване за анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) с *VIEW DAB Detection Kit* на инструменти BenchMark IHC/ISH.

Тип на процедурата	Метод	
	XT	ULTRA
Депарафинизация	Избрана	Избрана
Cell Conditioning (разкриване на антиген)	CC1, стандарт	ULTRA CC1, стандартно
Анти тяло (първично)	16 минути, 37 °C	16 минути, 36 °C
A/B Block (блокиране на биотин)	Необходимо	Необходимо
Контраст	Hematoxylin II, 4 минути	Hematoxylin II, 4 минути
След контраст	Bluing, 4 минути	Bluing, 4 минути

ПРОЦЕДУРИ ЗА КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

Положителна тъканна контрола

Оптималната лабораторна практика е да се включи положителен контролен срез на същото предметно стъкло като тестовата тъкан. Това помага да се идентифицират евентуални грешки при нанасяне на реактиви върху предметното стъкло. Тъкан със слабо положително оцветяване е най-подходяща за контрол на качеството.

Известните положителни тъканни контроли трябва да се използват само за проследяване на ефективността на реактивите и инструментите, а не като помощ при определяне на специфична диагноза на тестовите проби. Ако положителните тъканни контроли не показват положително оцветяване, резултатите от тестовата проба трябва да се считат за невалидни.

Положителна тъканна контрола трябва да се провежда при всяка извършена процедура на оцветяване. CAP препоръчва върху предметното стъкло на пациента да има положителната тъканна контрола.⁹ Пример за тъкан, която да се използва като положителна контрола с анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2), е слабо положителен карцином на гърдата. Положителните оцветяващи клетки или тъканни компоненти (ядрено оцветяване на туморни клетки) се използват, за да се потвърди, че анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) е приложено и инструментът функционира правилно. Тази тъкан може да съдържа както положителни, така и отрицателни оцветяващи се клетки или тъканни компоненти, и служи едновременно като положителна и отрицателна контролна тъкан. Контролните тъкани трябва да бъдат от пресни аутопсионни, биопсични или хирургични проби, подготвени или фиксирани възможно най-скоро по начин, идентичен на тестовите срезове. Такива тъкани могат да проследяват всички стъпки на процедурата – от подготовката на тъканта до оцветяването. Използване на тъканен срез, фиксиран или обработен по различен начин от тестовата проба, ще осигури контрол за всички реактиви и етапи на метода, с изключение на фиксирането и обработката на тъкани.

Тъкан със слабо положително оцветяване е по-подходяща от интензивно положително оцветяване за оптимален контрол на качеството и за откриване на ниски нива на разграждане на реактива. В идеалния случай трябва да се избере тъкан от карцином на гърдата, за която е известно, че има слабо, но положително оцветяване, за да се гарантира, че системата е чувствителна към малки количества разграждане на реактива или проблеми с методологията на IHC.

Или като положителна контрола може да се използва нормален човешки пролиферативен ендометриум. Компонентите с положително оцветяване са ядрено оцветяване на жлезист епител и стромални и гладкомускулни клетки.

Ендометриалната тъкан обаче може да не се оцвети достатъчно слабо, за да се открият малки количества разграждане на реактива или проблеми с методологията IHC.

Отрицателна тъканна контрола

Използвайте тъканна контрола, за която е известно, че е фиксирана, обработена и вградена по начин, идентичен с пробата (-ите) на пациента, при всеки цикъл на оцветяване, за да се провери специфичността на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) за демонстриране на PR и за предоставяне на индикация за специфично фонов оцветяване (фалшиво положително оцветяване). Също и много различни типове клетки в повечето тъканни срезове могат да се използват от лаборантите като вътрешна отрицателна контрола, за да проверят работните спецификации на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2). Например същата тъкан (ендометриум), използвана за положителна тъканна контрола, може да се използва като отрицателна тъканна контрола. Компонентите, които не се оцветяват (цитоплазма, клетъчна мембрана), трябва да показват липса на специфично оцветяване в клетки, за които не се очаква да се оцветят, и да показват индикация за специфично фонов оцветяване. Отрицателната тъканна контрола също трябва да се използва като помощно средство при интерпретирането на резултатите. Разнообразието от различни типове клетки, присъстващи в повечето тъканни срезове, често предлага отрицателни контролни места, но това трябва да бъде проверено от потребителя. Ако се появи специфично оцветяване в отрицателните тъканни контролни места, резултатите с пробите от пациента трябва да се считат за невалидни.

Отрицателна реактивна контрола

За всяка проба трябва да се проведе отрицателна контрола на реактива, за да се подпомогне интерпретирането на резултатите. Отрицателна контрола на реактива се използва вместо първичното анти тяло за оценка на неспецифичното оцветяване и позволява по-добра интерпретация на специфично оцветяване на мястото на антигена. Това осигурява индикация за неспецифично фонов оцветяване за всяко предметно стъкло. Вместо с първичното анти тяло оцветете предметното стъкло с CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, пречистено неимуно заешко IgG, което не реагира с човешки проби. Ако се използва алтернативна отрицателна контрола на реактива, разреждете до същото разреждане, както при антисерума с първичното анти тяло, с VENTANA Antibody Diluent. В анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) се задържа приблизително 0.2 % фетален телешки серум. Добавянето на 0.2 % фетален телешки серум във VENTANA Antibody Diluent също е подходящо за употреба като неспецифична отрицателна контрола на реактива. Инкубационният

период за отрицателната контрола на реактива трябва да бъде равен на този за първичното анти тяло.

Когато панели от няколко анти тела се използват върху серийни срезове, отрицателната контрола на реактива на едно предметно стъкло може да служи като отрицателна или неспецифична контрола за свързване на фона за други анти тела.

Проверка на анализа

Преди първоначалното използване на това анти тяло в диагностична процедура или ако има промяна в номера на партидата, специфичността на анти тялото трябва да се провери чрез оцветяване на редица положителни и отрицателни тъкани с известни работни характеристики. Вижте процедурите за контрол на качеството, описани по-рано в този раздел на листовката на продукта, и препоръките за контрол на качеството от College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist или CLSI Approved Guideline, или и двата документа.^{16,17} Тези процедури за контрол на качеството трябва да бъдат повторени за всяка нова партида анти тяло или когато има промяна на номера на партидата на един от реактивите в съответния комплект или промяна в параметрите на анализа. Контролът на качеството не може да бъде извършен достоверно отделно за един реактив, тъй като съответстващите реактиви, заедно с дефиниран протокол за анализ, трябва да бъдат тествани съвместно, преди да се използва комплект за диагностични цели. Тъканите, изброени в Обобщението на очакваните резултати, са подходящи за проверка на анализа.

Всички изисквания за контрол на качеството трябва да се извършват в съответствие с местните, щатските и федералните разпоредби или изискванията за акредитация.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА ОЦВЕТЯВАНЕТО/ОЧАКВАНИ РЕЗУЛТАТИ

Процедурата на оцветяване води до утаяване на оцветен реакционен продукт на антигенните места, локализиращи от анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2). Квалифициран патолог с опит в процедурите на IHC трябва да оцени положителните и отрицателните контроли и да квалифицира оцветения продукт, преди да интерпретира резултатите. Състоянието на рецептора на прогестерон се определя от процента оцветени туморни клетки. Даден случай се счита за положителен за PR, ако има оцветяване на ядрото, равно на или повече от 1 % от туморните клетки.⁹

Положителна тъканна контрола

Положителната тъканна контрола, оцветена с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2), трябва да бъде изследвана първа, за да се установи, че всички реактиви функционират правилно. Наличието на кафяв (3,3'-диаминобензидин тетрахлорид, DAB) реакционен продукт в ядрата на таргетните клетки показва положителна реактивност. Пример за тъкан, която може да се използва като положителна контрола, е известен слабо положителен карцином на гърдата, напр. $\geq 1\%$. Ядрата на туморните клетки трябва да бъдат положителни. Наложително е само ядреното оцветяване да се счита за положително, за да се избегне фалшиво положително интерпретиране. Може да се използва и нормален човешки ендометриум. При нормален ендометриум оцветяването на PR се наблюдава в ядрата на ендометриалните жлези и стромата. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат подходящо положително оцветяване, всички резултати с тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

Отрицателна тъканна контрола

Отрицателната тъканна контрола трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичното маркиране на таргетния антиген от първичното анти тяло. Липсата на специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола потвърждава липсата на кръстосана реактивност на анти тела към клетки или клетъчни компоненти. Карциномът на гърдата, използван като положителна контрола, може да се използва и като отрицателна контролна тъкан. Някои стромални елементи, за които е известно, че са отрицателни за PR, като ендотелни клетки, не трябва да показват ядрено оцветяване. Ако се появи специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола, резултатите с пробите от пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифичното оцветяване, ако има такова, ще има дифузен вид. Спорадично леко оцветяване на съединителната тъкан може да се наблюдава и в тъканни срезове, които са прекомерно фиксирани с формалин. За интерпретиране на резултатите от оцветяването трябва да се използват интактни клетки, тъй като некротични или дегенерирани клетки често се оцветяват неспецифично.¹⁸

Тъкан от пациента

Проби от пациента, оцветени с анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2), трябва да се изследват последни. Наситеността на положително оцветяване трябва да се

оценява в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на отрицателната контрола за реактива. PR може да бъде открит при други новообразувания, като рак на яйчника и ендометриума.¹⁹ Морфологията на всяка тъканна проба също така трябва да се изследва, като се използва оцветен с хематоксилин и еозин срез, когато се интерпретира всеки имунохистохимичен резултат. Морфологичните находки при пациента и съответните клинични данни трябва да бъдат интерпретирани от квалифициран патолог. Вижте Резюме и обяснение, Ограничения и Обобщение на очакваните резултати за конкретна информация относно имунореактивността.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общи ограничения

1. IHC е многостепенен диагностичен процес, който изисква специализирано обучение за подбор на подходящите реактиви и тъкани, фиксиране, обработка, подготовка на имунохистохимичното предметно стъкло и интерпретация на резултатите от оцветяването.
2. Оцветяването на тъкани зависи от начина на работа с и обработка на тъканите преди оцветяване. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, измиване, изсушаване, нагряване, нарязване или замърсяване с други тъкани или течности може да доведе до артефакти, улавяне на анти тяло или фалшиво отрицателни резултати. Непоследователните резултати могат да бъдат следствие от вариации в методите за фиксиране и вграждане или от присъщи нередности в тъканта.
3. Прекомерното или непълно оцветяване с контраст може да компрометира правилното интерпретиране на резултатите.
4. Клиничната интерпретация на всяко положително оцветяване или липсата му трябва да бъде оценена в контекста на клиничната анамнеза, морфологията и други хистопатологични критерии. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговото отсъствие трябва да бъде допълнена с морфологични изследвания и подходящи контроли, както и с други диагностични тестове. Това анти тяло е предназначено да се използва в панел от анти тела. Задължение на квалифициран патолог е да се запознае с анти телата, реактивите и методите, използвани за получаване на оцветения препарат. Оцветяването трябва да се извършва в сертифицирана, лицензирана лаборатория под наблюдението на патолог, който е отговорен за прегледа на оцветените предметни стъкла и който гарантира адекватността на положителните и отрицателните контроли.
5. Ventana осигурява анти тела и реактиви при оптимално разреждане за използване при спазване на предоставените инструкции. Всяко отклонение от препоръчаните тестови процедури може да направи невалидни очакваните резултати. Трябва да се използват и документираните подходящи контроли. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните тестови процедури, трябва да поемат отговорност за тълкуването на пациентските резултати.
6. Този продукт не е предназначен за използване в поточна цитометрия, като работните характеристики не са определени.
7. Реактивите могат да демонстрират неочаквани реакции в нетествани до този момент тъкани. Възможността за неочаквани реакции дори в тествани тъканни групи не може да бъде напълно елиминирана поради биологичната променливост на експресията на даден антиген в новообразувания или други патологични тъкани.²⁰ Свържете се с местния представител за поддръжка по отношение на документираните неочаквани реакции.
8. Тъкани от лица, инфектирани с вирус на хепатит В и съдържащи повърхностен антиген на хепатит В (HBsAg) може да проявят неспецифично оцветяване с хрянова пероксидаза.²¹
9. Когато се използват в стъпки за блокиране, нормалните серуми от един и същи животински източник като вторичните антисеруми, могат да доведат до фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати поради автоанти тела или естествени анти тела.
10. Фалшиво положителни резултати могат да се получат от неимунологичното свързване на протеини или продукти на субстратни реакции. Те могат също така да бъдат причинени от псевдопероксидазна активност (еритроцити), ендегенна пероксидазна активност (цитохром C) или ендегенен биотин (например: черен дроб, мозък, гърда, бъбрек) в зависимост от вида на използваното имунооцветяване.¹⁸
11. Както при всеки тест с IHC, отрицателен резултат означава, че анти генът не е бил открит, а не че анти генът липсва в изследваните клетки или тъкани.

Специфични ограничения

- Антитялото, в комбинация с комплекти за откриване и аксесоари VENTANA, открива антиген, който оцелява при рутинно фиксация с формалин, обработка на тъкани и нарязване. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните тестови процедури, са отговорни за интерпретирането и валидирането на пациентските резултати.
- Отрицателен резултат с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) не изключва наличието на PR. Отрицателните реакции при карциноми на гърдата могат да се дължат на загуба или значително намаляване на експресията на антиген. Поради това се препоръчва това антитяло да се използва в панел от антитела, включително естрогенен рецептор.
- Положително ядрено оцветяване с клона на антитяло 1E2 е наблюдавано в тъкан от сливици.²² Сливиците не са индикация за употреба с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2). Следователно, ако тъкан от сливици се използва като отрицателна тъканна контрола, тъканите от сливици трябва да бъдат изследвани, за да се гарантира, че е избран случай на отрицателно оцветяване.

Възможно е не всички анализи да са регистрирани на всеки инструмент. Моля, свържете се с местния представител на Roche за повече информация.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

Проведени са тестове за оцветяване за чувствителност, специфичност и точност и резултатите са изброени по-долу.

Чувствителност и специфичност

Чувствителността и специфичността на антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) се определя чрез оцветяване на множество случаи на нормални човешки тъкани. Резултатите са представени в Таб. 4 и Таб. 5. Положителното оцветяване е ядрено във всички изследвани тъкани, като един случай на яйчник показва неочаквано отрицателно оцветяване. Наблюдавано е положително оцветяване на тъкан от щитовидната жлеза, но това е установено по-рано.²³ Положително ядрено оцветяване с клона на антитяло 1E2 е наблюдавано при тъкан от сливици.²²

Таб. 4. Чувствителността/специфичността на антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) са определени чрез тестване на нормални FFPE тъкани.

Тъкан	Брой положителни/общо случаи	Тъкан	Брой положителни/общо случаи
Главен мозък	0/5	Хранопровод	0/3
Малък мозък	0/3	Стомаш	0/3
Надбъбречна жлеза	0/3	Тънко черво	0/3
Яйчник	2/3	Дебело черво	0/3
Панкреас	3/3	Черен дроб	0/3
Паращитовидна жлеза	0/4	Слюнчена жлеза	0/3
Хипофизна жлеза	3/3	Бъбрек	0/3
Тестис	0/3	Простата	1/3
Щитовидна жлеза	0/5	Пикочен мехур	0/5
Гърда ^a	4/4	Ендометриум	1/3
Далак	1/3	Цервикс	8/8
Сливца	1/3	Скелетен мускул	0/5
Тимус	0/3	Кожа	0/3
Костен мозък	0/3	Нерв	0/3

Тъкан	Брой положителни/общо случаи	Тъкан	Брой положителни/общо случаи
Бял дроб	0/3	Мезотел	0/3
Сърце	0/3		

^a Тъканта включва фибромастна тъкан.

Имунореактивността на антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) се определя чрез оцветяване на множество случаи на неопластични човешки тъкани. Случаите се считат за положителни за PR, ако има оцветяване на ядрото при най-малко $\geq 1\%$ от инвазивните туморни клетки.

Таб. 5. Чувствителността/специфичността на антитялото CONFIRM anti-PR (1E2) е определена чрез тестване на редица неопластични FFPE тъкани.

Патология	Брой положителни/общо случаи
Глиобластом (главен мозък)	0/1
Менингиом (главен мозък)	0/1
Епендимом (главен мозък)	0/1
Олигодендроглиом (малък мозък)	0/1
Серозен аденокарцином (яйчник)	1/1
Муцинозен аденокарцином (яйчник)	0/1
Невроендокринно новообразоване (панкреас)	1/1
Аденокарцином (панкреас)	0/1
Семином (тестис)	0/1
Ембрионален карцином (тестис)	0/1
Медуларен карцином (щитовидна жлеза)	1/1
Папиларен карцином (щитовидна жлеза)	0/1
Дуктален карцином in situ (гърда)	1/1
Инвазивен дуктален карцином (гърда)	0/1
В-клетъчен лимфом; NOS (далак)	0/1
Дребноклетъчен карцином (бял дроб)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (бял дроб)	0/1
Аденокарцином (бял дроб)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (хранопровод)	0/1
Аденокарцином (хранопровод)	0/1
Муцинозен аденокарцином (стомаш)	0/1
Аденокарцином (черво)	0/1
Аденокарцином (дебело черво)	0/1
Злокачествена смесена мезенхимна неоплазма (дебело черво)	0/1
Аденокарцином (ректум)	0/1
Злокачествена смесена мезенхимна неоплазма (ректум)	0/1
Меланом (ректум)	0/1
Хепатоцелуларен карцином (черен дроб)	0/1
Хепатобластом (черен дроб)	0/1
Ясноклетъчен карцином (бъбрек)	0/1
Аденокарцином (простата)	1/1

Патология	Брой положителни/общо случаи
Уротелиален карцином (простатна част на уретрата)	1/1
Лейомиом (матка)	1/1
Аденокарцином (матка)	1/2
Ясноклетъчен карцином (матка)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (цервикс)	1/1
Ембрионален рабдомиосарком (набразден мускул)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (набразден мускул)	0/1
Базоцелуларен карцином (кожа)	0/1
Неврофиброма (медиастинум)	1/1
Невробластом (ретроперитонеум)	1/1
Мезотелиом (перитонеум)	0/1
Ходжкинов лимфом (лимфен възел)	0/1
Лимфом, NOS (лимфен възел)	0/2
В-клетъчен лимфом, NOS (лимфен възел)	0/1
Уротелиален карцином (пикочен мехур)	0/1

Чувствителността зависи от запазването на антигена. Всяко неправилно боравене с тъкани по време на фиксиране, нарязване на срезове, враждане или съхранение, което променя антигенността, отслабва откриването на PR с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) и може да генерира фалшиво отрицателни резултати.

Точност между инструментите BenchMark XT и BenchMark ULTRA

Шест отделни случая с тъкани бяха оцветени като част от теста за повторяемост. От шестте тъкани две са имали висока експресия на PR, две са имали ниска експресия на PR и две са били отрицателни за PR според граница от < 1 % туморни клетки с оцветяване за отрицателен резултат, 1–10 % за ниска и > 10 % за висока експресия.

За тестване на повторяемостта в рамките на цикъла 9 предметни стъкла от всеки случай са били оцветени с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) и едно предметно стъкло от всеки случай е било оцветено с анти тяло CONFIRM Negative Control Rabbit Ig на инструмент BenchMark XT. Същата конфигурация за тестване е изпълнена и на инструмент BenchMark ULTRA. Повторяемостта в рамките на цикъла на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2), както на инструмент BenchMark XT, така и на инструмент BenchMark ULTRA, е била 100 % съгласувана на всички положителни тъкани в рамките на шест случая.

За тестване на междинната точност между дните четири предметни стъкла от всеки случай са били оцветени с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2), а едно предметно стъкло от всеки случай е било оцветено с анти тяло CONFIRM Negative Control Rabbit Ig при пет отделни неконсекutивни серии, проведени в рамките на 20-дневен период на един и същ инструмент BenchMark XT. Същата конфигурация за тестване е изпълнена и на инструмент BenchMark ULTRA. Междинната точност между дните на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2), както на инструмент BenchMark XT, така и на инструмент BenchMark ULTRA, е била 100 % съгласувана на всички положителни тъкани в рамките на шест случая.

За тестване на междинната точност между инструментите BenchMark XT са оцветени 4 предметни стъкла от шест случая с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) в рамките на три отделни инструмента BenchMark XT. Едно единствено предметно стъкло от всеки случай е оцветено с анти тяло CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Междинната точност между инструментите на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) на три инструмента BenchMark XT е била 100 % съгласувана за всичките шест случая.

За тестване на междинната точност между инструментите BenchMark ULTRA 4 предметни стъкла от шест случая са били оцветени с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) в рамките на три отделни инструмента BenchMark ULTRA. Едно единствено предметно стъкло от всеки случай е оцветено с анти тяло CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Междинната точност между инструментите на анти тялото CONFIRM

anti-PR (1E2) на три инструмента BenchMark ULTRA е била 100 % съгласувана за всичките шест случая.

Всички тестове за възпроизводимост са отговорили на критериите за приемане за успех.

Точност на инструмент BenchMark ULTRA PLUS

Девет отделни случая с тъкани бяха оцветени като част от теста за точност. От деветте тъкани три са имали висока експресия на PR, три са имали ниска експресия на PR и три са били отрицателни за PR според граница от < 1 % туморни клетки с оцветяване за отрицателен резултат, 1–10 % за ниска и > 10 % за висока експресия.

За тестване на повторяемостта в рамките на цикъла пет предметни стъкла от всеки случай са били оцветени с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) и едно предметно стъкло от всеки случай е било оцветено с анти тяло CONFIRM Negative Control Rabbit Ig на инструмент BenchMark ULTRA PLUS. Повторяемостта в рамките на цикъла на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмент BenchMark ULTRA PLUS е била 100 % съгласувана. Предметните стъкла, оцветени с CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, са приемливи за сигнал и за фон.

За междинно тестване на точността между дните две предметни стъкла от всеки случай са били оцветени с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) и едно предметно стъкло от всеки случай е било оцветено с анти тяло CONFIRM Negative Control Rabbit Ig при пет отделни неконсекutивни серии, проведени в рамките на 20-дневен период на един и същ инструмент BenchMark ULTRA PLUS. Междинната точност между дните на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark ULTRA PLUS е била 97.8 %. Предметните стъкла, оцветени с CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, са приемливи за сигнал и за фон.

За тестване на междинната точност между инструментите BenchMark ULTRA PLUS две предметни стъкла от всеки случай са били оцветени с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) в рамките на три отделни инструмента BenchMark ULTRA PLUS. Едно единствено предметно стъкло от всеки случай е оцветено с анти тяло CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Междинната точност между инструментите на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) на три инструмента BenchMark ULTRA PLUS е била 98,1 %.

Междублабораторна възпроизводимост

Проучване на междублабораторната възпроизводимост за анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) е проведено с използването на цикъл от 14 предметни стъкла за рак на гърдата (8 положителни, 2 слабо положителни, 4 отрицателни) на 3 инструмента BenchMark XT и 3 инструмента BenchMark ULTRA с помощта на откриване /VIEW DAB и ultraView Universal DAB Detection Kit на всеки от 5 непоследователни дни в рамките на период от най-малко 20 дни при 3 външни лаборатории. Пробите са рандомизирани и оценени от общо 6 патолози (по 2 патолози на център) за процент на оцветените туморни клетки. Даден случай се е считал за положителен за PR, ако е имало оцветяване на ядрото в най-малко 1 % от инвазивните туморни клетки.⁹

За точност между централите честотите на средното положително съответствие (APA) и средното отрицателно съответствие (ANA) за клинична оценка с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) са били съответно 99.7 % и 99.1 % на инструмента BenchMark ULTRA с откриване /VIEW; съответно 98.6 % и 95.4 % на инструмента BenchMark ULTRA с ultraView Universal DAB Detection Kit; съответно 99.4 % и 98.4 % на инструмента BenchMark XT с откриване /VIEW; и съответно 97.4 % и 91.3 % на инструмента BenchMark XT с ultraView Universal DAB Detection Kit.

За точност между дните честотите на APA и ANA за клинична оценка с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) са били съответно 99.7 % и 99.1 % на инструмента BenchMark ULTRA с откриване /VIEW; съответно 98.5 % и 95.5 % на инструмента BenchMark ULTRA с ultraView Universal DAB Detection Kit; съответно 99.3 % и 98.3 % на инструмента BenchMark XT с откриване /VIEW; и съответно 97.0 % и 90.8 % на инструмента BenchMark XT с ultraView Universal DAB Detection Kit.

За прецизност между четците APA и ANA за клинична оценка с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) са били съответно 99.7 % и 99.1 % на инструмента BenchMark ULTRA с откриване /VIEW; съответно 98.6 % и 95.6 % на инструмента BenchMark ULTRA с ultraView Universal DAB Detection Kit; съответно 99.3 % и 98.3 % на инструмента BenchMark XT с откриване /VIEW; и съответно 98.6 % и 95.1 % на инструмента BenchMark XT с ultraView Universal DAB Detection Kit.

За точност между платформите между инструментите BenchMark ULTRA и BenchMark XT честотите на APA и ANA са съответно 99.5 % и 98.7 % за откриване /VIEW и съответно 98.0 % и 93.9 % за ultraView Universal DAB Detection Kit.

За точност в рамките на платформата честотите на APA и ANA са съответно 98.7 % и 96.4 % за инструмент BenchMark ULTRA и съответно 97.4 % и 92.6 % за инструмент BenchMark XT.

Сравнение на *VIEW DAB Detection Kit* и *ultraView Universal DAB Detection Kit* с използване на анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2).

Анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) е използвано за провеждане на сравнително тестване за откриване на два инструмента (инструмент BenchMark XT и инструмент BenchMark ULTRA) с използване на *VIEW DAB Detection Kit* и *ultraView Universal DAB Detection Kit*. Сто деветдесет и девет случая с тъкани бяха използвани като част от теста. От случаите приблизително половината са положителни и половината – отрицателни, в зависимост от процента на оцветените туморни клетки.

Оцветените предметни стъкла са били оценени от патолози, които са определили процента оцветени туморни клетки. Даден случай се е считал за положителен за PR, ако е имало оцветяване на ядрото в най-малко 1 % от туморните клетки.

Процентите на морфология и приемливост на фона са били 100 % както за комплектите за откриване, така и за инструментите, с изключение на *ultraView Universal DAB Detection Kit* на инструмента BenchMark ULTRA, където е имало процент на приемливост на фона 99.5 %. Директните сравнения за положителна и отрицателна клинична оценка между комплектите за откриване за всяка платформа са представени в Таб. 6 за инструмента BenchMark ULTRA и в Таб. 7 за инструмента BenchMark XT.

Таб. 6. Клинична оценка за *ultraView Universal DAB Detection Kit* спрямо *VIEW DAB Detection Kit* на инструмента BenchMark ULTRA.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Положителни	Отрицателни	Общо
Положителни	94	11	105
Отрицателни	2	86	88
Общо	96	97	193
	n/N	% (95 % CI)	
Положителен процент на съответствие	94/96	97.9 (92.7–99.4)	
Процент отрицателно съответствие	86/97	88.7 (80.8–93.5)	
Общ процент на съответствие	180/193	93.3 (88.8–96.0)	

Таб. 7. Клинична оценка за *ultraView Universal DAB Detection Kit* спрямо *VIEW DAB Detection Kit* на инструмента BenchMark XT.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Положителни	Отрицателни	Общо
Положителни	91	14	105
Отрицателни	2	86	88
Общо	93	100	193
	n/N	% (95 % CI)	
Положителен процент на съответствие	91/93	97.8 (92.5–99.4)	
Процент отрицателно съответствие	86/100	86.0 (77.9–91.5)	
Общ процент на съответствие	177/193	91.7 (87.0–94.8)	

Съпадение на клинична оценка между комплектите за откриване за двата инструмента са били съответно над 90 % при 93.3 % (n = 193) и 91.7 % (n = 193) за инструменти BenchMark ULTRA и BenchMark XT. *ultraView Universal DAB Detection*

Kit спрямо *VIEW DAB Detection Kit* е имал проценти на съпадение на оценката за оцветяване 90.2 % (n = 193) и 85.5 % (n = 193).

Сравнение на инструмент BenchMark ULTRA спрямо инструмент BenchMark ULTRA PLUS

Проведено е проучване, за да се сравни ефективността на оцветяване на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark ULTRA PLUS спрямо инструмента BenchMark ULTRA. Сто тридесет и четири (134) случая на тъкани от карцином на гърдата (61 положителни за PR, 61 отрицателни за PR и 12 гранично положителни за PR), представляващи клиничния диапазон на анализа. Оцветените предметни стъкла са били оценени от патолози, които са определили процента оцветени туморни клетки. Даден случай се е считал за положителен за PR, ако е имало оцветяване на ядрото в най-малко ≥ 1 % от инвазивните туморни клетки.⁹ Директното сравнение за положителния и отрицателния статус за PR между инструмента BenchMark ULTRA и инструмента BenchMark ULTRA PLUS е представено в Таб. 8.

Таб. 8. Анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark ULTRA PLUS и анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark ULTRA (с изключение на гранично положителните случаи).

Инструмент BenchMark ULTRA PLUS	Инструмент BenchMark ULTRA		
	Положителни	Отрицателни	Общо
Положителни	79	2	81
Отрицателни	6	23	29
Общо	85	25	110
	n/N	% (95 % CI)	
Положителен процент на съответствие	79/85	92.9 (85.4–96.7)	
Процент отрицателно съответствие	23/25	92.0 (75.0–97.8)	
Общ процент на съответствие	102/110	92.7 (86.3–96.3)	

Процентът на морфологична приемливост за всички оцветени в това изследване предметни стъкла е бил 100.0 % (95 % доверителен интервал 97.2 %–100.0 %) за инструмента BenchMark ULTRA PLUS. Процентът на приемливост на фона е бил 100.0 % (95 % доверителен интервал 97.2 %–100.0 %) за инструмента BenchMark ULTRA PLUS.

КЛИНИЧНО ПРЕДСТАВЯНЕ

Сравнение на анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) с FLEX anti-PR (PgR 636).

Проведено е рандомизирано, многоцентрово проучване с няколко четци за сравняване на производителността на оцветяване на анти тялото CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark ULTRA и на инструмента BenchMark XT спрямо тази на Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR (PgR 636)) на Dako Autostainer Plus. На инструменти BenchMark IHC/ISH ендogenous биотин е блокиран с използване на VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit. Анти тялото е открито чрез *VIEW DAB Detection Kit*. На платформата Dako анти тялото е открито чрез EnVision Flex, откриване при High pH. Приблизително 120 отрицателни и 216 положителни случая на рак на гърдата, представляващи клиничния диапазон на анализа, са били произволно разпределени в три центъра за изследване, така че всеки център е получил равен брой случаи и всеки център е получил случаи, представляващи всяка клинична категория за оценка. Всеки център оцветява разпределените му случаи с анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмент BenchMark ULTRA, анти тяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмент BenchMark XT и с FLEX anti-PR (PgR 636) на Dako Autostainer Plus. Оцветените предметни стъкла са били оценени от патолози, които са определили процента оцветени туморни клетки. Даден случай се е считал за положителен за PR, ако е имало оцветяване на ядрото в най-малко ≥ 1 % от инвазивните туморни клетки.⁹

Таб. 9. Антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмент BenchMark ULTRA спрямо FLEX anti-PR (PgR 636) на Dako Autostainer Plus.

Антитяло CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Положителни	Отрицателни	Общо
Положителни:	200	7	207
Отрицателни:	9	104	113
Общо:	209	111	320
	n/N	% (95 % CI)	
Положителен процент на съответствие	200/209	95.7 (92.0–97.7)	
Процент отрицателно съответствие	104/111	93.7 (87.6–96.9)	
Общ процент на съответствие	304/320	95.0 (92.0–96.9)	

Таб. 10. Антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark XT спрямо FLEX anti-PR (PgR 636) на Dako Autostainer Plus.

Антитяло CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Положителни	Отрицателни	Общо
Положителни:	186	9	195
Отрицателни:	18	100	118
Общо:	204	109	313
	n/N	% (95 % CI)	
Положителен процент на съответствие	186/204	91.2 (86.5–94.3)	
Процент отрицателно съответствие	100/109	91.7 (85.0–95.6)	
Общ процент на съответствие	286/313	91.4 (87.7–94.0)	

За оцветяване с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструментите BenchMark ULTRA и BenchMark XT спрямо FLEX anti-PR (PgR 636) на Dako Autostainer Plus положителните, отрицателните и общите проценти на съвпадение (обединени за всички центрове) са били повече от 90 %.

Таб. 11. Антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark ULTRA спрямо антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark XT.

Инструмент BenchMark ULTRA	Инструмент BenchMark XT		
	Положителни	Отрицателни	Общо
Положителни:	184	12	196
Отрицателни:	6	105	111
Общо:	190	117	307
	n/N	% (95 % CI)	
Положителен процент на съответствие	184/190	96.8 (93.3–98.5)	
Процент отрицателно съответствие	105/117	89.7 (82.9–94.0)	
Общ процент на съответствие	289/307	94.4 (90.9–96.3)	

За оцветяване с антитяло CONFIRM anti-PR (1E2) на инструмента BenchMark ULTRA спрямо инструмента BenchMark XT положителните, отрицателните и общите проценти на съвпадение са били повече от 89 %.

Процентите на морфологична приемливост за всички оцветени в това изследване предметни стъкла бяха 99.7 % (95 % доверителен интервал 98.3 %–99.9 %) за инструмента BenchMark ULTRA и 96.1 % (95 % доверителен интервал 93.5 %–97.7 %) на инструмента BenchMark XT. Процентите на приемливост на фона са 99.4 % (95 % доверителен интервал 97.9 %–99.8 %) за инструмента BenchMark ULTRA 95.2 % (95 % доверителен интервал 92.4 %–97.0 %) на инструмента BenchMark XT.

ОТСТРАНЯВАНЕ НА НЕИЗПРАВНОСТИ

1. Ако положителната контрола показва по-слабо оцветяване от очакваното, проверете другите положителни контроли, пускани едновременно, за да определите дали това се дължи на първичното антитяло или на един от общите вторични реактиви.
2. Ако положителната контрола е отрицателна, проверете дали предметното стъкло е с правилния етикет с баркод. Ако предметното стъкло е етикетирано правилно, проверете другите положителни контроли, пускани едновременно, за да определите дали това се дължи на първичното антитяло или на един от общите вторични реактиви. Тъканите може да са неправилно взети, фиксирани или депарафинизирани. Спазвайте правилната процедура за вземане, съхранение и фиксиране.
3. Ако се наблюдава прекомерно фоново оцветяване, може да има високи нива на ендогенен биотин. Трябва да бъде включена стъпка за блокиране на биотин.
4. Ако не е отстранен целият парафин, повторете процедурата по депарафинизация.
5. Ако оцветяването със специфично антитяло е твърде интензивно, повторете цикъла, като съкращавате времето на инкубиране на първичното антитяло с интервали от 4 минути, за да се постигне желаната интензивност на оцветяване.
6. Ако тъканите срезове се отмиват от предметното стъкло, проверете предметните стъкла, за да гарантирате, че са заредени положително.
7. За коригиращи действия вижте раздел Процедурата стъпка по стъпка от ръководството на потребителя за инструмента или се свържете с местния представител за поддръжка.

РЕФЕРЕНЦИИ

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):907-922.
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. Immunohistochemistry-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 progesterone 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.

ЗАБЕЛЕЖКА: В този документ винаги се използва точка като десетичен разделител за маркиране на границата между интегралната и дробната част на десетично число. Разделители за хиляди не се използват.

Резюмето на безопасността и производителността можете да намерите тук:

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

Символи

Ventana използва следните символи и знаци в допълнение към изброените в стандарта ISO 15223-1 (за USA: вижте elabdoc.roche.com/symbols за повече информация).



Глобален номер на търговска единица

Rx only

За USA: Внимание: Федералният закон ограничава продажбата на това изделие от или по указание на лекар.

ИСТОРИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

Ред.	Актуализации
Н	Корекция на препратката към Таблица 8. Актуализации съгласно текущия шаблон.

ИНТЕЛЕКТУАЛНА СОБСТВЕНОСТ

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM и ULTRAVIEW са търговски марки на Roche. Всички останали продуктови названия и търговски марки са собственост на съответните им собственици.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

ИНФОРМАЦИЯ ЗА КОНТАКТ



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

www.roche.com



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

