

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

REF 790-4324  50

05278406001

REF 790-4325  250

05278414001

IVD

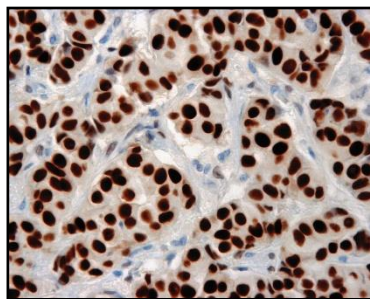


Fig. 1. CONFIRM anti ER (SP1)-antikropp färgning av lobulärt bröstkarcinom.

AVSEDD ANVÄNDNING

CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp) är avsedd för laboratoriebruk vid kvalitativ detektion av östrogenreceptor (ER)-antigen i snitt av formalinfixerad, paraffinbäddad bröstvävnad på ett automatiserat färgningsinstrument för objektglas från VENTANA med VENTANA-detektionskit och tillbehörsreagens. CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp är riktad mot en epitop som finns på humant ER-alfa-protein beläget i kärnan

i ER-positiva normala och neoplastiska celler. CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp indikeras som ett hjälpmedel för hantering, prognos och förutsägelse av hormonbehandling av bröstkarcinom.

Denna produkt bör tolkas av en kvalificerad patolog i samband med en histologisk undersökning, relevant klinisk information och lämpliga kontroller.

Endast receptbelagd användning.

Denna antikropp är avsedd för användning vid in vitro-diagnostik (IVD).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp är en monoklonal kaninantikropp som känner igen human östrogenreceptor (ER) alfa. ER är en nukleär hormonreceptor som är kodad av två distinkta gener, ESR1 och ESR2, som transkriberar alfa- och beta-isoformer.^{1,2} ER-alfa är den primära isoformen uttryckt i luminala epitelceller i bröstvävnad.^{1,2} ER-aktivitet driver normal bröstkörtelutveckling och krävs för differentiering och proliferation i bröstepitel hos vuxna.^{3,4} I neoplastiska celler initierar uppreglerad ER-aktivitet, inducerad av överuttryck av receptorn, en kaskad av cellulära händelser som resulterar i hyperproliferation och tumörbildning.⁵

Bröstcancer är den främsta orsaken till cancerrelaterad död hos kvinnor.⁶ Diagnosen och behandlingen av sjukdomen bygger på tidig upptäckt i kombination med en lämplig behandlingsstrategi baserad på prognostiska och prediktiva faktorer.^{7,8} ER identifierades som en prognostisk indikator för bröstcancer 1973 och dess värde för att förutsäga svar på endokrin terapi utvärderades i en stor kohort 1986.^{9,10} ER har sedan dess blivit en av paradigm tumörmarkörerna för hantering av patienter med bröstcancer. En hög ER-koncentration i brösttumören korrelerar med större respons på endokrin terapi.^{7,8} Kunskapen om ER-status spelar en viktig roll i valet av behandling för patienten, men är inte den enda grunden för val av behandling.^{7,8} Det har visat sig i ett antal studier att förekomsten av ER ger en gynnsam långsiktig prognos.^{10,11}

Kliniska riktlinjer och rekommendationer om bästa praxis föreskriver att ER-status ska utvärderas i alla fall av primärinvasiv bröstcancer för att identifiera patienter som sannolikt kommer att svara på endokrina former av behandling.^{7,8} Selektiva östrogenreceptormodulatorer blockerar östrogenmedierad cancerförmåga genom att mildra ER-hyperaktivitet och används som endokrin (hormon) terapi för patienter som överuttrycker receptorn.^{8,12} För närvarande är valet av behandling för ER-positiva karcinom tamoxifen.^{7,8}

Riktlinjer och rekommendationer om bästa praxis betonar att immunhistokemi (IHC) är den föredragna metoden för att upptäcka ER i bröstcancer.¹³ Studier av stora kohorter av invasiva fall av bröstcancer har visat att anti-ER klon SP1 är mer känslig för ER-detektion än monoklonala kloner 1D5 och 6F11 från mus.^{14,15} IHC-baserad detektion av ER med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp kan användas som ett hjälpmedel vid hantering, prognos och förutsägelse av hormonbehandling för bröstkarcinom.

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp binder till ER i formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) vävnadssnitt. Den specifika antikroppen kan lokaliseras genom antingen en biotinkonjugerad sekundär antikroppsformulering som känner igen kaninimmunglobuliner, följt av tillsats av ett streptavidin pepparrotsperoxidas-konjugat (HRP) (VIEW DAB Detection Kit) eller ett sekundäantikropp-HRP-konjugat (ultraView Universal DAB Detection Kit). Det specifika antikropp-enzymkomplexet visualiseras sedan med en enzymreaktionsprodukt som fälls ut. Kliniska fall bör utvärderas inom ramen för hur lämpliga kontroller presterar. Ventana rekommenderar att en positiv vävnadskontroll inkluderas, som fixeras och bearbetas på samma sätt som patientprovet (till exempel ett svagt positivt bröst- eller livmoderkarcinom). Förutom att färga med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp, ska ett andra objektglas färgas med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. För att testet ska anses giltigt bör den positiva kontrollvävnaden uppvisa nukleär färgning av tumörceller eller livmoderkörtlar och stroma. Dessa komponenter bör vara negativa när de färgas med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Dessutom rekommenderas att ett negativt vävnadskontrollobjektglas (till exempel ett ER-negativt bröstkarcinom) inkluderas för varje uppsättning av prover som bearbetas och körs på ett BenchMark IHC/ISH-instrument. Denna negativa vävnadskontroll bör färgas med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp för att säkerställa att antigenförstärkningen och andra förbehandlingsprocedurer inte skapar falsk positiv färgning.

MEDFÖLJANDE MATERIAL

CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp (kat. nr. 790-4324) innehåller tillräckligt med reagens för 50 tester.

En 5 mL dispenser av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp innehåller ca 5 µg av en kanin monoklonal antikropp riktad mot humant ER-antigen.

CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp (kat. nr. 790-4325) innehåller tillräckligt med reagens för 250 tester.

En 25 mL dispenser av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp innehåller ca 25 µg av en kanin monoklonal antikropp riktad mot humant ER-antigen.

Antikroppen är utspädd i Tris- HCl med bärarprotein och 0.10 % ProClin 300, ett konserveringsmedel. Det finns spår (~ 0.2 %) av fetalt kalvserum med amerikanskt ursprung från stamlösningen.

Specifik antikropps-koncentration är ca 1 µg/mL. Ingen känd icke-specifik antikroppsreaktivitet i denna produkt.

CONFIRM anti-ER (SP1)-antikroppen är en monoklonal kaninantikropp som tillverkas som en cellodlingssupernatant.

Se metodblad för respektive detektionskit från VENTANA för detaljerad beskrivning av: Principer för proceduren, Material och metoder, Provsamling och beredning för analys, Proceduren för kvalitetskontroll, Felsökning, Tolkning av resultaten och Begränsningar.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

Färgningsreagens som VENTANA-detektionskit och tillhörande komponenter, inklusive objektglas med negativa och positiva vävnadskontroller, medföljer inte.

Eventuellt är inte alla produkter i metodbladet tillgängliga i alla länder. Rådfråga din lokala supportrepresentant.

Följande reagenser och material kan behövas vid färgning men medföljer ej:

1. Rekommenderad kontrollvävnad
2. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
3. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (kat. nr 760-1029 / 05266238001)
4. ultraView Universal DAB Detection Kit (kat. nr 760-500 / 05269806001)
5. /VIEW DAB Detection Kit (kat. nr 760-091 / 05266157001)
6. A/B Block (Endogenous Biotin Blocking Kit) (kat. nr 760-050 / 05266092001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. nr 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. nr 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (kat. nr 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (kat. nr 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. nr 950-124 / 05279801001)

12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. nr 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (kat. nr 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (kat. nr 760-2037 / 05266769001)
15. BenchMark IHC/ISH-instrument
16. Laboratorieutrustning för allmänt bruk

FÖRVARING OCH STABILITET

Förvaras i 2–8 °C vid mottagandet och när den inte används. Får ej frysas.

För att garantera korrekt reagenstillförsel och antikroppens stabilitet måste locket på dispensern sättas på igen efter varje användning, och dispensern omedelbart placeras i kylskåp i upprätt läge.

Varje antikroppsdispenser är märkt med utgångsdatum. Vid korrekt förvaring är reagenset stabilt fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte reagenset efter detta utgångsdatum.

PROVBEREDNING

Rutinmässigt bearbetade FFPE-vävnader lämpar sig för användning med denna primärantikropp när de används med VENTANA-detektionskit och BenchMark IHC/ISH-instrument. Följande steg rekommenderas för bearbetning av prover:¹⁶

1. Placera provet i 10 % neutralt buffrat formalin. Den använda mängden är 15 till 20 gånger vävnadens volym. Inget fixeringsmedel kommer att tränga igenom mer än 2 till 3 mm av fast vävnad eller 5 mm av porös vävnad under en period av 24 timmar. Ett vävnadssnitt på 3 mm eller mindre bör fixeras i minst 4 timmar och högst 8 timmar. Fixering kan utföras i rumstemperatur (15–25 °C).
2. Efter fixering placeras provet i ett instrument för vävnadsbearbetning för beredning över natten. Kortfattat består denna bearbetning av uttorkning av provet med alkoholer följt av rensning av reagenser för att avlägsna alkoholer och slutligen infiltrering med paraffin.
3. Prover är inbäddade med paraffin i vävnadskassetter och cirka 4 µm tjocka sektioner skärs, centreras och plockas upp på objektglas. Objektglasen ska vara Superfrost Plus eller motsvarande. Vävnaden bör lufttorkas genom att man placerar objektglasen i rumstemperatur över natten eller i en 60 °C ugn i 30 minuter.

Objektglasen ska färgas omedelbart eftersom antigeniciteten hos vävnadssnitten kan minska med tiden.

Det rekommenderas att positiva och negativa vävnadskontroller körs samtidigt som okända prover.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För användning vid in vitro-diagnostik (IVD).
2. Endast för yrkesmässigt bruk.
3. **FÖRSIKTIGHET:** Enligt federal lag i USA får enheten endast säljas av läkare, eller enligt läkares ordination. (Rx Only)
4. Använd inte fler gånger än det angivna antalet tester.
5. ProClin 300-lösning används som konserveringsmedel i detta reagens. Det har klassificerats som ett irriterande ämne och kan orsaka sensibilisering genom hudkontakt. Läkta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon, hud och slemhinnor. Använd skyddskläder och handskar.
6. Positivt laddade objektglas kan vara känsliga för miljöpåverkan vilket kan leda till felaktig färgning. Be din servicerepresentant från Roche om mer information om hur denna typ av objektglas ska användas.
7. Denna produkt innehåller 1 % eller mindre av bovinserum som används vid tillverkningen av antikroppen.
8. Material av humant eller animaliskt ursprung ska hanteras som biologiskt farligt avfall och omhändertas i enlighet med tillämpliga försiktighetsåtgärder. Vid exponering ska de ansvariga myndigheternas hälsodirektiv följas.^{17,18}
9. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon och slemhinnor. Om reagenser kommer i kontakt med känsliga områden ska dessa sköljas med stora mängder vatten.
10. Undvik mikrobiell kontaminering av reagenser eftersom det kan orsaka felaktiga resultat.
11. För ytterligare information om användningen av den här enheten, se användarhandboken för BenchMark IHC/ISH-instrumentet och bruksanvisningarna för alla nödvändiga komponenter på dialog.roche.com.

12. Kontakta lokala och/eller statliga myndigheter angående rekommenderad metod för avfallshantering.
13. Produktsäkerhetsmärkningen följer främst EU:s GHS-vägledning. Säkerhetsdatablad finns tillgängligt för professionella användare på begäran.
14. För att rapportera misstänkta allvarliga händelser relaterade till den här enheten ska man kontakta den lokala Roche-representanten och den behöriga myndigheten i den medlemsstat eller land där användaren är etablerad.

Denna produkt innehåller komponenter som klassificeras enligt följande i enlighet med Förordning (EG) nr 1272/2008:

Tab. 1. Information om risker.

Risk	Kod	Betydelse
	H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.
	H412	Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.
	P261	Undvik att andas in dimma eller ångor.
	P273	Undvik utsläpp i miljön.
	P280	Använd skyddshandskar.
	P333 + P313	Vid hudirritation eller utslag: sök läkarhjälp.
	P362 + P364	Ta av nedstämta kläder och tvätta dem innan de används igen.
	P501	Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

Denna produkt innehåller CAS nr 55965-84-9, reaktionsmassa av 5-klor-2-metyl-2H-isotiazol-3-on och 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1).

FÄRGNINGSPROCEDUR

VENTANA primärantikroppar har utvecklats för användning på BenchMark IHC/ISH-instrument i kombination med VENTANA-detektionskit och tillbehör. Se vidare i Tab. 2 och Tab. 3 för rekommenderade färgningsprotokoll.

Denna antikropp har optimerats för specifika inkubationstider, men användaren måste validera resultat som erhålls med detta reagens.

Parametrarna för de automatiserade procedurerna kan visas, skrivas ut och redigeras i enlighet med metoden i instrumentets användarhandbok. Se lämpligt metodblad för VENTANA-detektionskit för ytterligare information om IHC färgningsprocedurer.

Mer information om korrekt användning av denna enhet finns i metodbladet för inline dispensern om medföljer art. nr 790-4324 eller 790-4325.

Verifiering och validering av den rekommenderade färgningsproceduren för varje detektionskit demonstreras genom designkontrolltestning och resultat från kliniska studier.

All modifiering av det rekommenderade färgningsförfarandet upphäver de prestandaegenskaper som anges i detta metodblad. Användaren måste ta ansvar för alla ändringar av den rekommenderade färgningsproceduren.

Tab. 2. Rekommenderade färgningsprotokoll för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp med ultraView Universal DAB Detection Kit på BenchMark IHC/ISH-instrument.

Procedurtyp	Metod	
	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS
Avparaffinering	Vald	Vald
Cellkonditionering (antigendemaskering)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
Antikropp (primär)	16 minuter, 37 °C	16 minuter, 36 °C
Kontrastfärg	Hematoxylin II, 4 minuter	Hematoxylin II, 4 minuter
Efter kontrastfärg	Bluing, 4 minuter	Bluing, 4 minuter

Tab. 3. Rekommenderade färgningsprotokoll för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp med VIEW DAB Detection Kit på BenchMark IHC/ISH-instrument

Procedurtyp	Metod	
	XT	ULTRA
Avparaffinering	Vald	Vald
Cellkonditionering (antigendemaskering)	CC1, Standard	ULTRA CC1, Standard
Antikropp (primär)	16 minuter, 37 °C	16 minuter, 36 °C
A/B-blockering (biotinblockering)	Obligatorisk	Obligatorisk
Kontrastfärg	Hematoxylin II, 4 minuter	Hematoxylin II, 4 minuter
Efter kontrastfärg	Bluing, 4 minuter	Bluing, 4 minuter

På grund av variationer i vävnadsfixering och -bearbetning samt generella laboratorieinstrument och omgivningsförhållanden, kan man behöva öka eller minska inkubationen med primärantikroppen, cellkonditionering eller proteasförbehandlingen, baserat på individuella prover, den detektion som används och läsarpreferens. Ytterligare information om fixeringsvariabler finns i "Immunohistochemistry Principles and Advances".¹⁹

POSITIV VÄVNADSKONTROLL

En positiv vävnadskontroll måste inkluderas med varje utförd färgningskörning. College of American Pathologists rekommenderar att en positiv vävnadskontroll ska finnas på patientens objektglas.¹³ Ett exempel på vävnad som ska användas som en positiv kontroll med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp är ett svagt positivt bröstkarinom. De positivt färgade cellerna eller vävnadskomponenterna (nukleär färgning av tumörceller) används för att bekräfta att CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp applicerades och instrumentet fungerade korrekt. Denna vävnad kan innehålla både positivt och negativt färgade celler eller vävnadskomponenter och fungera som både positiv och negativ kontrollvävnad. Kontrollvävnad bör utgöras av färsk obduktions-, biopsi- eller kirurgiska prover, vilka preparerats eller fixerats så tidigt som möjligt på ett sätt som är identiskt med behandlingen av testsnitten. Sådana vävnader kan kontrollera alla steg i proceduren, från vävnadsberedning till färgning. Användning av ett vävnadssnitt som är fixerat eller bearbetat på ett annat sätt än testprovet kommer att ge kontroll för alla reagens- och metodsteg utom fixering och vävnadsbearbetning.

En vävnad med svag positiv färgning är mer lämplig än stark positiv färgning för optimal kvalitetskontroll och för att detektera lägre nivåer av reagensnedbrytning. Helst bör en bröstkarinomvävnad, som är känd för att ha svag men positiv färgning, väljas för att säkerställa att systemet är känsligt för små mängder reagensnedbrytning eller problem med IHC-metoden.

Alternativt kan normalt humant proliferativt endometrium användas för en positiv kontroll. De positiva färgningskomponenterna är nukleär färgning av körtelepitel och tvärstrimmiga och glatta muskelceller. Endometriell vävnad kanske emellertid inte färgar tillräckligt svagt för att detektera små mängder reagensnedbrytning eller problem med IHC-metoden.

Optimal laboratoriepraxis använder ett positivt kontrollsnitt på samma objektglas som testvävnad. Detta bidrar till att identifiera eventuella fel som gäller för reagenserna i objektglaset. Vävnad med svag positiv färgning är mer lämpad för optimal kvalitetskontroll. Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att kontrollera korrekt prestanda hos bearbetade vävnader och testreagenser och inte som hjälpmedel vid fastställande av specifika diagnoser i testprov. Om de positiva vävnadskontrollerna inte uppvisar positiv färgning, bör testprovernas resultat anses ogiltiga.

NEGATIV VÄVNADSKONTROLL

Använd en vävnadskontroll som är känd för att vara fixerad, bearbetad och inbäddad på ett sätt som är identiskt med patientprovet/proverna för varje färgningskörning för att verifiera specificiteten för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp för demonstration av ER och för att ge en indikation av specifik bakgrunds-färgning (falsk positiv färgning). Många olika celltyper i de flesta vävnadssnitt kan också användas som intern negativ kontroll för att verifiera prestandaspecifikationer för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp. Exempelvis kan samma vävnad (endometrium) som används för den positiva vävnadskontrollen användas som den negativa vävnadskontrollen. Komponenterna som inte färgar (cytoplasma,

cellmembran) bör visa frånvaro av specifik färgning i celler som inte förväntas färga och ge en indikation på specifik bakgrunds-färgning. Den negativa vävnadskontrollen bör också användas som ett hjälpmedel vid tolkning av resultat. De många olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt erbjuder ofta negativa kontrollplatser, men detta bör verifieras av användaren. Om specifik färgning inträffar på de negativa vävnadskontrollplatserna, bör resultaten med patientproverna betraktas som ogiltiga.

NEGATIV REAGENSKONTROLL

En negativ reagenskontroll måste köras för varje prov för att underlätta tolkningen av resultaten. En negativ reagenskontroll används i stället för primärantikroppen för att utvärdera icke-specifik färgning och möjliggöra bättre tolkning av specifik färgning vid antigenplatsen. Detta ger en indikation på icke-specifik bakgrunds-färgning för varje objektglas. I stället för primärantikroppen färgar du objektglaset med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, ett renat icke-immunt kanin-IgG som inte reagerar med humana prover. Om en alternativ negativ reagenskontroll används, spår till samma utspädning som det primära antikroppssantiseralet med Antibody Diluent. Ungefär 0.2 % fetalt kalvserum kvarhålls i CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp. En tillsats av 0.2 % fetalt kalvserum i Antibody Diluent är också lämpligt för användning som en icke-specifik negativ reagenskontroll. Inkubationsperioden för den negativa reagenskontrollen bör vara densamma som primärantikroppens.

När paneler med flera antikroppar används vid seriell snittning kan en negativ reagenskontroll på ett objektglas fungera som en negativ eller ospecifik bindningskontroll för andra antikroppar.

ANALYSVERIFIERING

Före första användningen av denna antikropp i ett diagnostiskt förfarande, eller om det sker en förändring av lotnummer, bör antikroppens specificitet verifieras genom färgning av ett antal positiva och negativa vävnader med kända prestandaegenskaper. Se de kvalitetskontrollförfaranden som tidigare beskrivits i detta avsnitt av produktangivelsen och rekommendationerna av kvalitetskontroller från College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, eller CLSI Approved Guideline eller båda dokumenten.^{20,21} Dessa kvalitetskontrollförfaranden bör upprepas för varje ny mängd av antikroppar eller när det finns en förändring av mängdstorleken för en av reagenserna i en matchad uppsättning eller en förändring av analysparametrar. Kvalitetskontroll kan inte utföras på ett meningsfullt sätt på en enskild isolerad reagens eftersom de matchade reagenserna, tillsammans med ett definierat analysprotokoll, måste testas tillsammans innan ett kit för diagnostiska ändamål används. Vävnader angivna i sammanfattningen av förväntade resultat är lämpliga för analysverifiering.

Alla krav på kvalitetskontroll bör utföras i enlighet med lokala, statliga och federala bestämmelser eller ackrediteringskrav.

TOLKNING AV FÄRGNINGRESULTAT / FÖRVÄNTADE RESULTAT

VENTANA-automatiserad immunfärgningsprocedur gör att en färgad reaktionsprodukt fälls ut vid antigenplatserna som lokaliserade av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp. En kvalificerad patolog med erfarenhet av immunhistokemiska procedurer måste utvärdera positiva och negativa kontroller och kvalificera den färgade produkten innan resultaten tolkas. Östrogenreceptorstatus bestäms av procentandelen färgade tumörceller. Ett fall anses vara ER-positivt om det finns nukleär färgning som är lika med eller större än 1 % av tumörcellerna.¹³ Specifik färgning av stroma och lymfocyter kan komma att observeras. Det är absolut nödvändigt att endast nukleär färgning i tumörceller beaktas när dessa objektglas bedöms.

Positiv vävnadskontroll

Den positiva vävnadskontrollen färgad med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Förekomst av en brun (3.3 tum diaminobensidin tetraklorid, DAB) reaktionsprodukt i målcellens kärnor är en indikation på positiv reaktivitet. Ett exempel på en vävnad som kan användas som en positiv kontroll är ett känt svagt positivt bröstkarinom, t.ex. ≥ 1 % där kärnorna i tumörcellerna ska vara positiva. Normalt humant endometrium kan också användas. I normalt endometrium ses ER-färgning i kärnor i endometrialkörtilarna och stroma. Om de positiva vävnadskontrollerna inte uppvisar lämplig positiv färgning, bör alla testprovernas resultat anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll

Den negativa vävnadskontrollen bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att verifiera den specifika märkningen av målantigenet med primärantikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrollen bekräftar avsaknad av korsreaktivitet för antikropp för celler eller cellulära komponenter. Bröstkarinom som används som en

positiv kontroll kan också användas som en negativ kontrollvävnad. Vissa stromala element som är kända för att vara ER-negativa, såsom endotelceller, bör inte visa någon nukleär färgning. Om specifik färgning inträffar på den negativa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientproverna betraktas som ogiltiga.

Icke-specifik färgning, om sådan förekommer, kommer att ha ett diffust utseende. Sporadisk ljus färgning av bindväv kan också observeras i vävnadssnitt som är alltför formalinfixerade. Inaktiva celler ska användas för tolkning av färgningsresultaten, eftersom nekrotiska eller nedbrutna celler ofta kommer att färgas ospecifikt.²²

Patientvävnad

Patientprover färgade med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp bör undersökas sist. Positiv färgningsintensitet bör bedömas inom ramen för eventuell icke-specifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. ER kan detekteras bland andra neoplasmer, såsom cancer i äggstockarna och endometrium.¹³ Morfologin för varje vävnadsprov bör också undersökas med hjälp av en hematoxylin- och eosinfärgad sektion vid tolkning av eventuella immunhistokemiska resultat. Patientens morfologiska resultat och relevanta kliniska data måste tolkas av en kvalificerad patolog. Mer specifik information om immunreaktivitet finns i Sammanfattning och förklaring, Begränsningar och Sammanfattning av förväntade resultat.

BEGRÄNSNINGAR

Allmänna begränsningar

- IHC är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialutbildning i valet av lämpliga reagenser och vävnader, fixering, bearbetning, beredning av immunhistokemiobjektglas och tolkning av färgningsresultaten.
- Vävnadsfärgning är beroende av hantering och bearbetning av vävnaden före färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, bindande antikroppar eller falska negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan vara en konsekvens av variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder eller från inneboende oregelbundenheter i vävnaden.
- Överdriven eller ofullständig kontrastfärgning kan leda till felaktig tolkning av resultaten.
- Den kliniska tolkningen av positiv färgning eller frånvaro därav, måste utvärderas inom ramen för klinisk historik, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller frånvaro därav, måste kompletteras med morfologiska studier och korrekta kontroller samt andra diagnostiska tester. Denna antikropp är avsedd att användas i en panel av antikroppar. Det är en kvalificerad patologs ansvar att känna till antikropparna, reagenserna och metoderna som används för att producera det färgade preparatet. Färgning måste utföras i ett certifierat, licensierat laboratorium under överinseende av en patolog som ansvarar för att granska de färgade objektglasen och säkerställa att de positiva och negativa kontrollerna är tillräckliga.
- Ventana tillhandahåller antikroppar och reagenser med optimal utspädning för användning när de medföljande instruktionerna följs. Avvikelser från rekommenderade testförfaranden kan ogiltigförklara förväntade resultat. Lämpliga kontroller måste användas och dokumenteras. Användare som avviker från rekommenderade testförfaranden måste ta ansvar för tolkningen av patientresultaten.
- Denna produkt är inte avsedd för användning i flödescytometri, prestandaegenskaper har inte fastställts.
- Reagenser kan visa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Risken för oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte elimineras fullständigt på grund av biologisk variation av antigenuttryck i neoplasmer eller andra patologiska vävnader.²² Kontakta din lokala supportrepresentant med dokumenterade oväntade reaktioner.
- Vävnader från personer som är infekterade med hepatit B-virus och som innehåller hepatit B-tytanten (HBsAg) kan uppvisa icke-specifik färgning med pepparotsperoxidas.²³
- Vid användning i blockeringssteg kan normala serum från samma djurkälla som sekundära antiserum orsaka falska negativa eller falska positiva resultat på grund av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
- Falska positiva resultat kan ses på grund av icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av pseudoperoxidasaktivitet (erytrocyter), endogen peroxidasaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (till exempel: lever, hjärna, bröst, njure) beroende på vilken typ av immunfärgning som använts.²⁴

- Som med alla IHC-test betyder ett negativt resultat att antigenet inte detekterades, inte att antigenet inte fanns i cellerna eller analyserad vävnad.

SPECIFIKA BEGRÄNSNINGAR

- Antikroppen, i kombination med VENTANA-detektionskit och tillbehör, detekterar antigen som överlever en rutin av formalinfixering, vävnadsbearbetning och snittning. Användare som avviker från rekommenderade testförfaranden är ansvariga för tolkningen och valideringen av patientresultaten.
- Ett negativt resultat för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp utesluter inte närvaron av ER. Negativa reaktioner i bröstkarinom kan bero på förlust eller markant minskat uttryck av antigen. Därför rekommenderas att denna antikropp används i en panel av antikroppar inklusive progesteronreceptor.
- Alla analyser kanske inte registreras på varje instrument. Kontakta din lokala Roche-representant för mer information.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

Färgningstester för sensitivitet, specificitet och precision utfördes och resultaten sammanfattas nedan.

Sensitivitet och specificitet

Immunreaktivitet av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp bestämdes genom färgning av flera fall av normala humana vävnader. Resultaten anges i Tab. 4.

Tab. 4. Sensitivitet/specificitet för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp bestämdes genom att testa normala FFPE-vävnader.

Vävnad	Antal positiva/ totala fall	Vävnad	Antal positiva/ totala fall
Cerebrum	0/5	Esofagus/Matstrupe	0/3
Cerebellum	0/3	Magsäck	0/3
Binjure	0/3	Tunntarm	0/3
Äggstock	1/3	Kolon	0/3
Bukspottkörtel	0/3	Lever	0/3
Bisköldkörtel	0/4	Spottkörtel	0/3
Hypofys	3/3	Njure	0/3
Testikel	0/3	Prostata	2/3
Sköldkörtel	1/5	Urinblåsa	0/5
Bröst ^a	12/12	Endometrium	3/3
Mjälte	0/3	Cervix	1/3
Tonsill	1/3	Skelettmuskulatur	0/3
Thymus	0/3	Hud ^b	0/5
Benmärg	0/3	Nerv	0/3
Lunga	0/3	Mesotel	0/3
Hjärta	0/3		

^a Vävnaden omfattar fiberfettvävnad.

^b Vävnaden omfattar bröstvärta.

Immunreaktivitet av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp bestämdes genom färgning av flera fall av neoplastiska humana vävnader. Fall ansågs vara ER-positiva om det fanns nukleär färgning i åtminstone $\geq 1\%$ av invasiva tumörceller.¹³ Resultaten anges i Tab. 5.

Tab. 5. Sensitivitet/specificitet för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp bestämdes genom att testa olika neoplastiska FFPE-vävnader.

Patologi	Antal positiva/ totala fall
Glioblastom (cerebrum)	0/1
Meningiom (cerebrum)	0/1
Ependymom (cerebrum)	0/1
Oligodendrogliom (cerebellum)	0/1
Seröst adenokarcinom (äggstock)	0/1
Mucinöst adenokarcinom (äggstock)	0/1
Neuroendokrin neoplasi (bukspottkörtel)	0/1
Adenokarcinom (bukspottkörtel)	0/1
Seminom (testikel)	0/1
Embryonalt karcinom (testikel)	0/1
Medullärt karcinom (sköldkörtel)	0/1
Papillärt karcinom (sköldkörtel)	0/1
Duktalt karcinom in situ (bröst)	1/3
Invasivt duktalt karcinom (bröst)	9/20
Invasivt lobulärt karcinom (bröst)	2/3
Medullärt karcinom (bröst)	0/1
Papillärt karcinom (bröst)	1/1
Bröstcancer (metastatisk)	0/5
B-cellslymfom; NOS (mjälte)	0/1
Småcelligt karcinom (lunga)	0/1
Skvamöst cellkarcinom (lunga)	0/1
Adenokarcinom (lunga)	0/1
Skvamöst cellkarcinom (esofagus)	0/1
Adenokarcinom (esofagus)	0/1
Mucinöst adenokarcinom (mage)	0/1
Adenokarcinom (tarm)	0/1
Malign blandad mesenkymal neoplasi (tarm)	0/1
Adenokarcinom (kolon)	0/1
Malign blandad mesenkymal neoplasi (kolon)	0/1
Adenokarcinom (rektum)	0/1
Malign blandad mesenkymal neoplasi (rektum)	0/1
Melanom (rektum)	0/1
Hepatocellulärt karcinom (lever)	0/1
Hepatoblastom (lever)	0/1
Klarcellskarcinom (njure)	0/1
Adenokarcinom (prostata)	1/1

Patologi	Antal positiva/ totala fall
Urotelialt karcinom (prostatisk uretra)	1/1
Leiomyom (livmoder)	1/1
Adenokarcinom (livmoder)	2/2
Klarcellskarcinom (livmoder)	0/1
Skvamöst cellkarcinom (cervix)	0/1
Embryonalt rabdomyosarkom (striated muskulatur)	0/1
Basalcellskarcinom (hud)	0/1
Skvamöst cellkarcinom (striated muskulatur)	0/1
Neurofibrom (mediastinum)	0/1
Neuroblastom (retroperitoneum)	0/1
Spindelcellsrabdomyosarkom (retroperitoneum)	0/1
Mesoteliom (bukhinna)	0/1
Hodgkins lymfom (lymfkörtel)	0/1
Lymfom, NOS (lymfkörtel)	0/2
B-cellslymfom, NOS (lymfkörtel)	0/1
Urotelialt karcinom (urinblåsa)	0/1
Osteosarkom (ben)	0/1
Leiomyosarkom (glatt muskulatur)	0/1

Sensitiviteten är beroende av bevarandet av antigenet. All felaktig hantering av vävnader under fixering, snittning, inbäddning eller lagring som förändrar antigenicitet försvagar ER-detektion med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp och kan generera falska negativa resultat.

Instrumentprecision hos BenchMark XT och BenchMark ULTRA

Sex enskilda vävnadsfall färgades som en del av precisionstestningen. Av de sex vävnaderna hade två högt ER-uttryck, två hade lågt ER-uttryck och två var ER-negativa baserat på en gräns på < 1 % tumörcellsfärgning för negativt, 1–10 % för lågt och > 10 % för högt uttryck.

För testning vid körningar av repeterbarhet färgades 9 objektglas från varje fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp, och ett objektglas från varje fall färgades med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antikropp på ett BenchMark XT-instrument. Samma testkonfiguration utfördes också på ett BenchMark ULTRA-instrument. Repeterbarhet vid körningar av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på både BenchMark XT- och BenchMark ULTRA-instrument var 100 % överensstämmande för alla positiva vävnader i sex fall. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-färgade objektglas var acceptabla för signal och bakgrund.

För mellanliggande precision mellan olika dagar, färgades fyra objektglas från varje fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp, och ett objektglas från varje fall färgades med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antikropp i fem olika, ej på varandra följande körningar under en 20-dagarsperiod på ett BenchMark XT-instrument. Samma testkonfiguration utfördes också på ett BenchMark ULTRA-instrument. Mellanliggande precision mellan olika dagar av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på både BenchMark XT- och BenchMark ULTRA-instrument var 100 % överensstämmande för alla positiva vävnader i sex fall. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-färgade objektglas var acceptabla för signal och bakgrund.

För testning av BenchMark XT för mellanliggande precision mellan olika instrument färgades 4 objektglas från sex fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på tre separata BenchMark XT-instrument. Ett enda objektglas från varje fall färgades med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antikroppen. Mellanliggande precision mellan olika instrument av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på tre BenchMark XT-instrument var 100 %

överensstämmande i alla sex fallen. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-färgade objektglas var acceptabla för signal och bakgrund.

För testning av BenchMark ULTRA för mellanliggande precision mellan olika instrument, färgades 4 objektglas från sex fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på tre separata BenchMark ULTRA-instrument. Ett enda objektglas från varje fall färgades med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antikroppen. Mellanliggande precision mellan olika instrument av CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på tre BenchMark ULTRA-instrument var 100 % överensstämmande i alla sex fallen. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-färgade objektglas var acceptabla för signal och bakgrund.

Precision för BenchMark ULTRA PLUS-instrument

Nio enskilda vävnadsfall färgades som en del av precisionstestningen. Av de nio vävnaderna hade tre högt ER-uttryck, tre hade lågt ER-uttryck och tre var ER-negativa baserat på en gräns på < 1 % tumörcellsfärgning för negativt, 1-10 % för lågt och > 10 % för högt uttryck.

För testning av repeterbarhet vid körning färgades fem objektglas från varje fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp, och ett objektglas från varje fall färgades med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antikropp på ett BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Repeterbarhet vid körning för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på BenchMark ULTRA PLUS-instrument var 100 % överensstämmande. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-färgade objektglas var acceptabla för signal och bakgrund.

För mellanliggande precision mellan olika dagar, färgades två objektglas från varje fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp, och ett objektglas från varje fall färgades med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antikropp i fem olika, ej på varandra följande köningar under en 20-dagarsperiod på samma BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Intermediär precision mellan olika dagar för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på BenchMark ULTRA PLUS-instrument var 100 % överensstämmande. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-färgade objektglas var acceptabla för signal och bakgrund.

För testning av mellanliggande precision mellan instrument för BenchMark ULTRA PLUS färgades två objektglas från varje fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på tre separata BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Ett enda objektglas från varje fall färgades med CONFIRM Negative Control Rabbit Ig-antikroppen. Mellanliggande precision mellan olika instrument för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på tre BenchMark ULTRA PLUS-instrument var 100 %.

Reproducerbarhet mellan laboratorier

En studie av reproducerbarhet mellan laboratorier för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp utfördes med 14 objektglas för bröstcancer (8 positiva, 2 lågt positiva, 4 negativa) på 3 BenchMark XT- och 3 BenchMark ULTRA-instrument, med *VIEW DAB*-detektion och *ultraView DAB*-detektion, på var och en av 5 icke på varandra följande dagar under en period på minst 20 dagar vid 3 externa laboratorier. Proverna randomiserades och utvärderades av totalt 6 patologer (2 stycken per plats) för procentandel av färgade tumörceller. Ett fall ansågs vara ER-positivt om det fanns nukleär färgning i åtminstone 1 % av de invasiva tumörceller.¹³

För precision mellan olika platser var graden av genomsnittlig positiv överensstämmelse (APA) och genomsnittlig negativ överensstämmelse (ANA) för klinisk bedömning med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikroppen 94.3 % respektive 87.9 %, på BenchMark ULTRA-instrumentet med *VIEW*-detektion 94.2 % respektive 85.8 %, på BenchMark ULTRA-instrument med *ultraView*-Detektion; 95.6 % respektive 90.9 %, på BenchMark XT-instrument med *VIEW*-detektion; och 94.2 % respektive 85.3 %, på BenchMark XT-instrument med *ultraView*-detektion.

För precision mellan olika dagar var APA- och ANA-frekvensen för klinisk bedömning med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikroppen 97.9 % respektive 95.5 % på BenchMark ULTRA-instrument med *VIEW*-detektion, 98.4 % respektive 96.2 % på BenchMark ULTRA-instrument med *ultraView*-Detektion; 98.0 % respektive 95.9 %, på BenchMark XT-instrument med *VIEW* detektion; och 98.2 % respektive 95.5 %, på BenchMark XT-instrument med *ultraView*-detektion.

Precision mellan läsare var för APA och ANA vid klinisk bedömning med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp 95.7 % respektive 90.9 %, på BenchMark ULTRA-instrument med *VIEW*-detektion, 94.1 % respektive 85.7 %, på BenchMark ULTRA-instrument med *ultraView*- Detektion; 94.9 % respektive 89.6 %, på BenchMark XT-instrument med *VIEW*-detektion; och 93.4 % respektive 83.6 %, på BenchMark XT-instrument med *ultraView*-Detektion.

För precision mellan olika plattformar över BenchMark ULTRA- och BenchMark XT-instrument, var APA- och ANA-frekvensen 97.8 % respektive 95.5 %, för *VIEW*-detektion, och 98.9 % respektive 97.4 % för *ultraView*-detektion.

För precision inom plattformar var APA- och ANA-frekvenserna 97.9 % respektive 95.2 % för BenchMark ULTRA-instrument och 97.8 % respektive 95.0 % för BenchMark XT-instrument.

Jämförelse av *VIEW DAB Detection Kit* och *ultraView Universal DAB Detection Kit* med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp

CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp användes för att utföra jämförelsetest för detektion över två instrument (BenchMark XT- och BenchMark ULTRA-instrumenten), med *VIEW DAB Detection Kit* och *ultraView Universal DAB Detection Kit*. Hundranittio (199) vävnadsfall användes som en del av testningen. Av de utvärderbara fallen som bestämdes av BenchMark ULTRA-instrumentet var 111 positiva och 83 negativa som en funktion av procentandelen färgade tumörceller. De färgade objektglasen utvärderades av patologer som bestämde andelen färgade tumörceller. Ett fall ansågs vara ER-positivt om det fanns nukleär färgning hos åtminstone 1 % av tumörceller.

Acceptabilitet för morfologi och bakgrund var 100 % för både detektionskit och instrument. Direkta jämförelser för positiv och negativ klinisk bedömning mellan detektionskit för varje instrument presenteras i Tab. 6 för BenchMark ULTRA-instrumentet och i Tab. 7 för BenchMark XT-instrumentet.

Tab. 6. Bedömning för *ultraView Universal DAB Detection Kit* jämfört med *VIEW DAB Detection Kit* på BenchMark ULTRA-instrumentet.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Positivt	Negativt	Totalt
Positivt	108	3	111
Negativt	3	80	83
Totalt	111	83	194
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv överensstämmelse i procent	108/111	97.3 (92.4–99.1)	
Negativ överensstämmelse i procent	80/83	96.4 (89.9–98.8)	
Övergripande överensstämmelse i procent	188/194	96.6 (93.4–98.6)	

Tab. 7. Bedömning för *ultraView Universal DAB Detection Kit* jämfört med *VIEW DAB Detection Kit* på BenchMark XT-instrumentet.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Positivt	Negativt	Totalt
Positivt	106	5	111
Negativt	2	79	81
Totalt	108	84	192
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv överensstämmelse i procent	106/108	98.1 (93.5–99.5)	
Negativ överensstämmelse i procent	79/84	94.0 (86.8–97.4)	
Övergripande överensstämmelse i procent	185/192	96.4 (92.7–98.2)	

Övergripande bedömningsavtal mellan detektionskit för båda plattformarna var 96.9 % (n = 194) respektive 96.4 % (n = 192) för BenchMark ULTRA- och BenchMark XT-instrumenten. Ett *ultraView Universal DAB Detection Kit* i jämförelse med *VIEW DAB Detection Kit* hade överensstämmelsegrader för färgning på 93.3 % (n = 194) och 93.8 % (n = 192).

Jämförelse av BenchMark XT-instrument med BenchMark ULTRA-instrument

En randomiserad studie på flera platser med flera läsare genomfördes för att jämföra färgningsprestanda för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på BenchMark ULTRA-

instrument jämfört med BenchMark XT-instrument. Hundratjugo (120) ER-negativa och 132 ER-positiva fall av bröstcancer, som representerar analysens kliniska intervall, tilldelades slumpmässigt till tre studieplatser så att varje plats fick lika många fall och varje plats fick fall som representerade varje klinik bedömningskategori. Varje plats färgade sina tilldelade fall med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på ett BenchMark ULTRA-instrument och CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på ett BenchMark XT-instrument. De färgade objektglasen utvärderades av patologer som bestämde andelen färgade tumörceller. Ett fall ansågs vara ER-positivt om det fanns nukleär färgning i åtminstone $\geq 1\%$ av de invasiva tumörceller.¹³

Tab. 8. CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på BenchMark ULTRA-instrument och CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på BenchMark XT-instrument.

BenchMark XT-instrument	BenchMark ULTRA-instrument		
	Positivt	Negativt	Totalt
Positivt	99	8	107
Negativt	11	91	102
Totalt	110	99	209
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv överensstämmelse i procent	99/107	92.5 (85.9–96.2)	
Negativ överensstämmelse i procent	91/102	89.2 (81.7–93.9)	
Övergripande överensstämmelse i procent	190/209	90.9 (86.2–94.1)	

Den morfologiska godtagbara värdet för alla färgade objektglas i den här studie var 100% (95 % C.I. 98.5 %–100 %) för BenchMark ULTRA-instrument och 94.0 % (95 % C.I. 90.4 %–96.4 %) för BenchMark XT-instrument. Den godtagbara graden för bakgrund var 94.8% (95 % C.I. 91.4 %–97.0 %) för BenchMark ULTRA-instrument och 90.9 % (95 % C.I. 86.7 %–93.8 %) för BenchMark XT-instrument.

Jämförelse av BenchMark ULTRA-instrument med BenchMark ULTRA PLUS-instrument

En studie genomfördes för att jämföra färgningsprestanda för CONFIRM anti-ER (SP1)-antikroppen på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet jämfört med BenchMark ULTRA-instrumentet. Etthundratjugo (120) fall av bröstcancer (54 ER-positiva, 54 ER-negativa och 12 på gränsen till ER-positiva), vilka representerar analysens kliniska intervall, färgades. De färgade objektglasen utvärderades av patologer som bestämde andelen färgade tumörceller. Ett fall ansågs vara ER-positivt om det fanns nukleär färgning hos minst $\geq 1\%$ av invasiva tumörceller.¹³ Överensstämmelsegrader mellan fall som färgats på varje instrument anges i Tab. 9.

Tab. 9. CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på BenchMark ULTRA PLUS-instrument och CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropp på BenchMark ULTRA-instrument (exklusive fall som gränsade till positiva).

BenchMark ULTRA PLUS-instrument	BenchMark ULTRA-instrument		
	Positivt	Negativt	Totalt
Positivt	53	0	53
Negativt	0	53	53
Totalt	53	53	106
	n/N	% (95 % CI)	
Positiv överensstämmelse i procent	53/53	100.0 (93.2–100.0)	
Negativ överensstämmelse i procent	53/53	100.0 (93.2–100.0)	

BenchMark ULTRA PLUS-instrument	BenchMark ULTRA-instrument		
	Positivt	Negativt	Totalt
Övergripande överensstämmelse i procent	106/106	100.0 (96.5–100.0)	

Acceptabilitet för morfologi för alla färgade objektglas i den här studien var 99.2% (95 % C.I. 95.4%–99.9%) för BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet. Bakgrundsgodtagbarheten var 100.0 % (95 % C.I. 96.8%–100.0 %) för BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet.

KLINISK PRESTANDA

Jämförelse med patientresultat

En randomiserad studie på en plats med flera läsare utfördes med hjälp av exemplar från 511 invasiva bröstcancerfall som hämtats från en klinisk kohort av 820 invasiva bröstcancerpatienter. Resultat för progressionsfri överlevnad jämfördes för patienter med olika CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropsstatus fastställda på BenchMark ULTRA-instrumentet. Fall inkluderades i analyserna om patienten hade en bekräftad diagnos av invasivt bröstcarcinom och fick behandling med primärt kirurgiskt ingrepp med eller utan postoperativ lokal strålbehandling, följt av adjuvant endokrin behandling med tamoxifen (20 mg p.o./dag) i 5 år. Fall uteslöts från analysen om diagnostisk biopsi eller primära kirurgiska vävnadsprover inte var tillgängliga, om det hade förekommit en tidigare cancerdiagnos (utom icke-melanom hudcancer), eller om patienten fått tidigare eller adjuvant kemoterapi. Totalt 1907 vävnadsmikroarraykärnor med primär tumör färgades på BenchMark ULTRA-instrumentet. De färgade objektglasen utvärderades av tre oberoende patologer som bestämde andelen färgade tumörceller. Ett fall ansågs vara ER-positivt om det fanns nukleär färgning i åtminstone $\geq 1\%$ av de invasiva tumörceller.¹³

I studien fanns det 441 patienter med Ventana ER-positiv (ER+) status och 18 patienter med Ventana ER-negativ (ER-) status. En Kaplan-Meier-skattning av överlevnadskurvan med CONFIRM anti-ER (SP1)-antikropsstatus bland den primära överlevnadsanalysens population visade en stark uppdelning mellan fall av Ventana ER+ och ER-. Patienter med ER+ hade längre överlevnadstid än patienter med ER- när tamoxifenbehandling gavs. Medianöverlevnadstiderna hos patienter med ER+ och ER- var 101.6 respektive 47.2 månader. Log-rank-testet visade att skillnaden i överlevnadskurvor var statistiskt signifikant ($P < 0.001$).

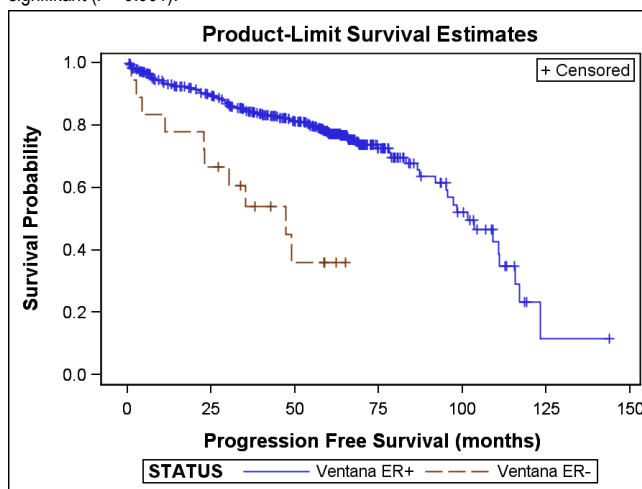


Fig. 2. Kaplan-Meier-skattning av överlevnadskurvan med Ventana ER-status.

FELSÖKNING

- Om den positiva kontrollen uppvisar svagare färgning än väntat, ska de andra positiva kontrollerna som körs samtidigt kontrolleras för att avgöra om det beror på primärantikroppen eller en av de vanliga sekundära reagenserna.
- Kontrollera att objektglaset har rätt streckkodsetikett om den positiva kontrollen är negativ. Om objektglaset är märkt ordentligt, kontrollera de andra positiva kontrollerna som körs samtidigt för att avgöra om det beror på den primära antikroppen eller en av de vanliga sekundära reagenserna. Vävnader kan ha

- samlats in på fel sätt, fixerats eller avparaffinerats. Följ rätt procedur för insamling, lagring och fixering.
- Om överdriven bakgrundsfärgning sker, kan höga nivåer av endogen biotin förekomma. Ett biotinblockeringssteg bör inkluderas.
 - Om allt paraffin inte har tagits bort upprepar du avparaffineringsproceduren.
 - Om specifik antikropps-färgning är för intensiv, upprepar du körningen med inkubationstiden för primärantikroppen förkortad med 4 minuters intervall för att uppnå önskad färgningsintensitet.
 - Om vävnadssnitt sköljs av objektglaset, kontrollerar du objektglaset för att se till att de är positivt laddade.
 - Mer information om korrigerande åtgärder hittar du i avsnittet om stegvis procedur i instrumentets användarhandbok eller genom att kontakta din lokala supportrepresentant.

REFERENSER

- Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen JA, et al. Estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids*. 2014;90:13-29.
- Yasar P, Ayaz G, User SD, et al. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. *Reprod Med Biol*. 2017;16(1):4-20.
- Tanos T, Rojo L, Echeverria P, et al. ER and PR signaling nodes during mammary gland development. *Breast Cancer Res*. 2012;14(4):210.
- Diep CH, Ahrendt H, Lange CA. Progesterone induces progesterone receptor gene (PGR) expression via rapid activation of protein kinase pathways required for cooperative estrogen receptor alpha (ER) and progesterone receptor (PR) genomic action at ER/PR target genes. *Steroids*. 2016;114:48-58.
- Carroll JS. Mechanisms of oestrogen receptor (ER) gene regulation in breast cancer. *Eur J Endocrinol*. 2016;175(1):R41-49.
- Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(4):444-457.
- Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019.
- 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.
- McGuire WL. Estrogen receptors in human breast cancer. *J Clin Invest*. 1973;52(1):73-77.
- Vollenweider-Zerargui L, Barrelet L, Wong Y, et al. The predictive value of estrogen and progesterone receptors' concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women. *Clinical correlation on 547 patients*. *Cancer*. 1986;57(6):1171-1180.
- Cheang MC, Treaba DO, Speers CH, et al. Immunohistochemical Detection Using the New Rabbit Monoclonal Antibody SP1 of Estrogen Receptor in Breast Cancer Is Superior to Mouse Monoclonal Antibody 1D5 in Predicting Survival. *JCO*. 2006;24(36):5637-5644.
- Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. *Rev Endocr Metab Disord*. 2007;8(3):229-239.
- 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.
- Bae YK, Gong G, Kang J, et al. Hormone Receptor Expression in Invasive Breast Cancer Among Korean Women and Comparison of 3 Antiestrogen Receptor Antibodies - A Multi-institutional Retrospective Study Using Tissue Microarrays. *Am J Surg Pathol* 2012;36:1817-1825.
- Bogina G, Zamboni G, Sapino A, et al. Comparison of Anti-Estrogen Receptor Antibodies Sp1, 6f11, and 1d5 in Breast Cancer: Lower 1d5 Sensitivity but Questionable Clinical Implications. *Am J Clin Pathol*. 2012;138(5):697-702.
- Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). *Fed. Register*.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

- Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, *Anatomic Pathology Checklist*, 2010.
- 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.
- Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem*. 1991;66(4):194-199.
- 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.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med*. 1983;14:767.

ANTECKNING: Punkt (hel punkt/stopp) används alltid i detta dokument som decimalavskiljare för att markera gränsen mellan heltal och bråkdelar i ett decimaltal. Tusentalsavgränsare används inte.

Sammanfattning av säkerhet och prestanda finns här:

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

Symboler

Ventana använder följande symboler och tecken utöver de som anges i standarden ISO 15223-1 (för USA: se [dialog.roche.com](https://www.dialog.roche.com) för definition av använda symboler):



Globalt artikelnummer



Unik enhetsidentifierare



Anger den enhet som importerar den medicintekniska produkten till Europeiska unionen

REVISIONSHISTORIK

Rev.	Uppdateringar
G	Uppdateringar för Varningar och försiktighetsåtgärder och Analytisk prestanda.

IMMATERIELL EGENDOM

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView* samt VENTANA är varumärken som tillhör Roche. Alla övriga varumärken tillhör sina respektive ägare.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTUPPGIFTER



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



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

