

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

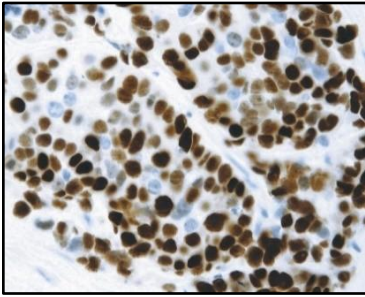
REF 790-2223 Σ 50

05277990001

REF 790-4296 Σ 250

05278392001

IVD



Şekil 1. Meme duktal karsinomunun CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanması.

KULLANIM AMACI

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody, progesteron reseptörü (PR) antijeninin, VENTANA otomatik slayt boyama aletinde VENTANA saptama kitleri ve yardımcı reaktifleriyle, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü doku kesitlerinde kalitatif saptamasında laboratuvar kullanımına yöneliktir. CONFIRM anti-PR (1E2), PR pozitif normal ve neoplastik hücrelerin çekirdeğinde yer alan insan progesteron reseptör proteininde bulunan bir epitopa

yöneliktir. CONFIRM anti-PR (1E2), meme karsinomuna yönelik hormon tedavisinin yönetimi, prognozu ve tahmininde yardımcı olarak endikedir.

Bu ürün, kalifiye bir patolog tarafından histolojik inceleme, ilgili klinik bilgiler ve doğru kontrollerle birlikte yorumlanmalıdır.

Yalnızca reçeteye kullanılır.

Bu antikor in vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna), insan progesteron reseptörünün (PR) A ve B izoformlarını tanıyan bir tavşan monoklonal antikorudur. İmmünojen, progesteron reseptörü A ve B formlarında ortak olan potansiyel olarak yüksek antijenisiteye sahip bir alan olarak tanımlanan sentetik bir peptitten geliştirilmiştir. Peptit, antijenisiteyi daha da artırmak için sentezlenmiş ve keyhole limpet hemosiyanine kovalent bağlanmıştır. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun, Western blotlama aracılığıyla T47D hücrelerinden 60 kD, 87 kD ve 110 kD proteinleriyle reaksiyona girdiği gösterilmiştir. Protein boyutları, progesteron reseptör formları A, B ve C'nin tahmin edilen moleküler ağırlığı ile uyumludur.¹

PR, bir tekli gen (PGR) tarafından kodlanan bir nükleer hormon reseptörüdür.^{1,2} PR aktivitesi, yakından ilişkili nükleer hormon reseptörü östrojen reseptörü (ER) tarafından düzenlenir. ER ve PR reseptörlerinin koordine eylemleri, normal meme bezi gelişimini tetikler ve yetişkin meme epitelinin ayırt edilmesi ve proliferasyonu için gereklidir.^{1,2,3}

Meme kanseri, kadınlarda kanser ile ilgili ölümlerin önde gelen nedenidir.⁴ Hastalığın teşhisi ve tedavisi erken saptamanın yanı sıra, prognoztik ve prediktif faktörlere dayalı olarak hastaları uygun tedaviye göre sınıflandırmaya bağlıdır.^{5,6} Meme kanserinin belirlenmiş teşhis amaçlı tetkiki; fiziksel tetkik, görüntüleme ve patolojik değerlendirmenin bir kombinasyonudur.⁵

ER meme kanseri hastalarının tedavisinde örnek tümör belirteçlerinden biridir. Klinik yönergeler ve en iyi uygulama önerileri, endokrin türü tedavilere yanıt verme olasılığı en yüksek olan hastaların belirlenmesinde, her primer invaziv meme kanseri vakasında ER durumunun değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.^{5,6} Seçici östrojen reseptörü modülatörleri, ER hiperaktivitesini azaltarak östrojen aracılı kanser büyümesini engeller ve reseptörün aşırı ekspresyonu olduğu hastalarda endokrin tedavisi olarak kullanılır.^{6,7}

Uygulamada, ER pozitif hastaların neredeyse yarısı endokrin tedavisine yanıt vermez; bu olgu kanserli lezyonlarda reseptörün malign transformasyonu ile bağlantılıdır.⁸ PR aşırı

ekspresyonu, ER'nin fonksiyonel durumunu değerlendirmek için bir haberci görevi görebilir. Meme tümörünü daha fazla karakterize etmek ve terapötik yanıtı tahmin etmek için kullanılabilir.^{8,9} 1975'te PR'nin aşırı ekspresyonunun endokrin tedaviye yanıt için öngörücü bir belirteç olabileceği hipotezi ortaya atılmıştır.⁸ Sonraki çalışmalar PR'nin prediktif ve prognoztik değerini doğrulamıştır.^{10,11} Daha yüksek düzeyde PR ekspresyonu, endokrin tedavisine daha iyi yanıtın bir göstergesidir.¹⁰

PR'nin saptanması, invaziv meme karsinomlu hastaların tedavisinde önemli bir unsurdur.^{5,6,9} Klavuzlar ve en iyi uygulama önerileri, meme kanserinde PR'yi saptamak için tercih edilen yöntemin immünohistokimya (IHC) olduğunu vurgulamaktadır.⁹ Bu nedenle, CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile PR'nin IHC tabanlı saptanması, meme karsinomunun yönetimi, prognozu ve tedavi sonucunun tahmininde yardımcı olarak kullanılabilir.

PROSEDÜR PRENSİBİ

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü (FFPE) doku kesitlerinde PR'ye bağlanır. Spesifik antikor, tavşan immünooglobülinlerini tanıyan biyotin konjuge sekonder antikor formülasyonunun ardından streptavidin yaban turbu peroksidazı (HRP) konjugatı (VIEW DAB Detection Kit) veya sekonder bir antikor HRP konjugatı (ultraView Universal DAB Detection Kit) eklenmesiyle lokalize edilebilir. Spesifik antikor-enzim kompleksi daha sonra, bir çökelme enzim reaksiyon ürünüyle görselleştirilir.

Klinik vakalar, uygun kontrollerin performansı bağlamında değerlendirilmelidir. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana), hasta numunesiyle aynı şekilde sabitlenen ve işlenen bir pozitif doku kontrolünün eklenmesini önerir (örneğin, zayıf pozitif bir meme karsinomu veya rahim). CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna boyamaya ek olarak, ikinci bir slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig ile boyanmalıdır. Testin geçerli sayılabilmesi için pozitif kontrol dokusu, tümör hücreleri veya uterus bezleri ve stromada nükleer boyama sergilemelidir. Bu bileşenler, CONFIRM Negative Control Rabbit Ig ile boyandığında negatif olmalıdır. Buna ek olarak, bir negatif doku kontrolü slaytının (örneğin, bir PR negatif meme karsinomu) işlenen her örnek partisi için eklenmesi ve bir BenchMark IHC/ISH cihazında çalıştırılması önerilir. Bu negatif doku kontrolü, antijen artırma ve diğer ön tedavi prosedürlerinin yanlış pozitif boyama oluşturmadığından emin olmak için CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanmalıdır.

ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN MALZEME

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna (Kat. No. 790-2223), 50 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 5 mL'lik CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna dağıtıcısı, insan PR antijenini hedefleyen yaklaşık 5 µg tavşan monoklonal antikoruna içerir.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna (Kat. No. 790-4296), 250 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 25 mL'lik CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna dağıtıcısı, insan PR antijenini hedefleyen yaklaşık 25 µg tavşan monoklonal antikoruna içerir.

Antikor, taşıyıcı protein ve bir koruyucu olan %0.1 ProClin 300 içeren Tris-HCl içinde seyreltilir. Stok çözeltisinden ABD orijinli bir fetal buzağı serumu izi (~0.2) bulunmaktadır. Spesifik antikor konsantrasyonu yaklaşık 1 µg/mL'dir. Bu üründen bilinen spesifik olmayan herhangi bir antikor reaktivitesi gözlemlenmemiştir.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna, hücre kültürü üst fazı olarak üretilen bir tavşan monoklonal antikorudur.

Aşağıdaki konular hakkında ayrıntılı bilgi için ilgili VENTANA saptama kitinin yöntem tablosuna bakın: Prosedür Prensipleri, Materyal ve Metotlar, Numune Toplama ve Analiz için Hazırlama, Kalite Kontrol Prosedürleri, Sorun Giderme, Sonuçların Yorumlanması ve Kısıtlamalar.

GEREKLİ OLAN FAKAT ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER

VENTANA saptama kitleri gibi boyama reaktifleri ve negatif ve pozitif doku kontrolü slaytlarını da içeren yardımcı bileşenler, ürünle birlikte verilmemektedir.

Yöntem tablosunda listelenen ürünlerin hepsi tüm bölgelerde mevcut olmayabilir. Yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

Aşağıda yer alan reaktifler ve malzemeler boyama için gerekli olabilir fakat ürünle birlikte verilmez:

- Önerilen kontrol dokusu
- Mikroskop slaytları, pozitif yüklü
- CONFIRM Negative Control Rabbit Ig (Kat. No. 760-1029 / 05266238001)

4. View DAB Detection Kit (Kat. No. 760-091 / 05266157001)
5. Endogenous Biotin Blocking Kit (Kat. No. 760-050 / 05266092001)
6. ultraView Universal DAB Detection Kit (Kat. No. 760-500 / 05269806001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (Kat. No. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Kat. No. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (Kat. No. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (Kat. No. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning 1 (CC1) (Kat. No. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (Kat. No. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (Kat. No. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (Kat. No. 760-2037 / 05266769001)
15. BenchMark IHC/ISH cihazı
16. Genel amaçlı laboratuvar ekipmanı

SAKLAMA VE STABİLİTE

Alındıktan sonra ve kullanmadığınız zamanlarda 2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Reaktifin uygun bir şekilde uygulandığından ve antikor stabilitesinden emin olmak için dağıtıcı kapağını her kullanımdan sonra yerine takın ve dağıtıcıyı derhal soğutucuya dikey konumda yerleştirin.

Her antikor dağıtıcının bir son kullanma tarihi vardır. Düzenli bir şekilde saklanması halinde, reaktif etikette belirtilen tarihe kadar stabil kalır. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

NUMUNE HAZIRLAMA

Rutin olarak işlenen FFPE dokular, VENTANA saptama kitleri ve BenchMark IHC/ISH cihazları ile birlikte kullanıldığında bu primer antikorla kullanım için uygundur. Numunelerin işlenmesi için aşağıdaki adımlar önerilir.¹²

Numuneyi %10'luk nötr tamponlu formalin içine koyun. Kullanılan miktar, doku hacminin 15 ila 20 katıdır. Hiçbir sabitleyici, solid dokunun 2 ila 3 mm'sinden fazlasına veya gözenekli dokunun 5 mm'den fazlasına 24 saatlik bir sürede nüfuz etmeyecektir. Dokunun 3 mm'lik veya daha küçük bir kesiti 4 saatten kısa ve 8 saatten uzun süreyle olmamak üzere sabitlenmelidir. Fiksasyon oda sıcaklığında (15–25 °C) gerçekleştirilebilir.

Fiksasyondan sonra numune, gece boyu hazırlık için bir doku işleme cihazına yerleştirilir. Kısacası bu işlem, numunenin alkoller ile dehidrasyonundan, ardından alkollerini gidermek için temizlik reaktiflerinin kullanımından ve son olarak parafin ile infiltrasyondan oluşur.

Örnekler doku kasetleri içinde parafine gömülür ve yaklaşık 4 µm kalınlığında kesitler kesilir, ortalanır ve cam slaytlar üzerine konur. Slaytlar Superfrost Plus veya muadili olmalıdır. Doku, slaytlar gece boyu ortam sıcaklığında bırakılarak havada kurutulmalı veya 30 dakika boyunca 60 °C sıcaklığındaki bir fırına konmalıdır.

Kesilen doku kesitlerinin antijenitesi zamanla azalabildiğinden slaytlar derhal boyanmalıdır. Daha fazla bilgi için, Roche temsilcinizden "Recommended Slide Storage and Handling" belgesinin bir kopyasını isteyin.


Pozitif ve negatif kontrollerin bilinmeyen numunelerle eş zamanlı olarak çalıştırılması önerilir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. İn vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.
2. Sadece profesyonel kullanım içindir.
3. Belirtilen test sayısının üzerinde kullanmayın.
4. ProClin 300 çözeltisi, bu reaktifte koruyucu olarak kullanılmıştır. Tahriş edici olarak sınıflandırılmıştır ve deriyle temas ettiğinde hassasiyete yol açabilir. Kullanırken uygun önlemleri alın. Reaktiflerin göz, deri ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Koruyucu giysi ve eldiven kullanın.
5. Bu ürün, antikor üretiminde kullanılan %1 veya daha az oranda bovin serumu içerir.
6. Pozitif yüklü slaytlar, uygun olmayan boyamaya yol açan çevresel streslere yatkın olabilir. Bu tür slaytların kullanımı hakkında daha fazla bilgi almak için Roche temsilcinize danışın.
7. İnsan veya hayvan kaynaklı materyaller, biyotehlikeli materyaller oldukları varsayılarak kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak atılmalıdır. Maruz kalma durumunda, sorumlu otoritelerin sağlık direktifleri izlenmelidir.^{13,14}
8. Reaktiflerin göz ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Reaktifler hassas bölgelerle temas ederse bu bölgeleri bol suyla yıkayın.
9. Yanlış sonuçlar alınmasına neden olabileceği için reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmasını önleyin.

10. Bu cihazın kullanımı hakkında daha fazla bilgi için BenchMark IHC/ISH cihazı Kullanıcı Kılavuzuna ve tüm gerekli bileşenlerin navifyportal.roche.com adresinde bulunan kullanım talimatlarına bakın.
 11. Önerilen imha yöntemi hakkında bilgi almak için yerel ve/veya resmi kurumlara danışın.
 12. Ürün güvenliği etiketi, öncelikli olarak EU GHS yönergelerini izler. Güvenlik bilgi formu profesyonel kullanıcı için talep üzerine temin edilir.
 13. Bu cihazla ilgili şüphelenilen ciddi olayları raporlamak için yerel Roche temsilcisi ve kullanıcının bulunduğu Üye Devlet veya Ülkenin yetkili makamıyla iletişime geçin.
- Bu ürün, Düzenleme (EC) No. 1272/2008 uyarınca aşağıdaki şekilde sınıflandırılan bileşenler içermektedir:

Tablo 1. Tehlike bilgileri.

Tehlike	Kod	Beyan
	H317	Alerjik deri reaksiyonuna yol açabilir.
	H412	Uzun süreli etkilerle su yaşamı için zararlıdır.
	P261	Sis veya buharı solumaktan kaçının.
	P273	Çevreye salınımından kaçının.
	P280	Koruyucu eldiven takın.
	P333 + P313	Cilt tahrişi veya kızarıklık oluşması halinde: Tıbbi tavsiye/yardım alın.
	P362 + P364	Kirlenmiş giysilerinizi çıkarın ve yeniden kullanmadan önce yıkayın.
	P501	İçeriği/kabı uygun bir atık imha tesisine atın.

Bu ürün CAS No. 55965-84-9 içerir, reaksiyon kütlesi: 5-kloro-2-metil-2H-izotiyazol-3-on ve 2-metil-2H-izotiyazol-3-on (3:1).

BOYAMA PROSEDÜRÜ

VENTANA primer antikorları, VENTANA saptama kitleri ve aksesuarlarıyla birlikte bir BenchMark IHC/ISH cihazı üzerinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Önerilen boyama protokolleri için Tablo 2 ve Tablo 3'e bakın.

Bu antikor spesifik inkübasyon süreleri için optimize edilmiştir ancak kullanıcı bu reaktifle elde edilen sonuçları doğrulamalıdır.

Otomatik prosedürlere ilişkin parametreler, cihazın Kullanıcı Kılavuzundaki prosedüre göre görüntülenebilir, yazdırılabilir ve düzenlenebilir. İmmünohistokimyasal boyama prosedürleriyle ilgili ayrıntılı bilgi için ilgili VENTANA saptama kiti yöntem tablosuna bakın.

Bu cihazın uygun kullanımına ilişkin ayrıntılar için P/N 790-4509 veya 790-4296 ile ilişkin olarak iç hat dağıtıcı yöntem tablosuna bakın.

Her bir saptama kiti için önerilen boyama protokolünün doğrulama ve onayı, tasarım kontrol testleri ve klinik çalışmaların sonuçları aracılığıyla ortaya konmaktadır.

Önerilen boyama prosedürü üzerinde yapılan her türlü değişiklik, bu yöntem tablosunda sunulan Performans Özelliklerini geçersiz kılar. Kullanıcı, önerilen boyama prosedürü üzerinde yapılan her türlü değişikliği onaylamalıdır.

Tablo 2. BenchMark IHC/ISH cihazlarında *ultra*View Universal DAB Detection Kit kullanılarak CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna için önerilen boyama protokolü.

Prosedür Tipi	Yöntem	
	XT	ULTRA veya ULTRA PLUS
Deparafinizasyon	Seçili	Seçili
Cell Conditioning (Antijen Ortaya Çıkarma)	CC1, Standart	ULTRA CC1, Standart
Antikor (Primer)	16 dakika, 37 °C	16 dakika, 36 °C
Karşıt Boya (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 dakika	Hematoxylin II, 4 dakika
Karşıt Boyama Sonrası	Bluing, 4 dakika	Bluing, 4 dakika

Tablo 3. BenchMark IHC/ISH cihazlarında *VIEW* DAB Detection Kit kullanılarak CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna için önerilen boyama protokolü.

Prosedür Tipi	Yöntem	
	XT	ULTRA
Deparafinizasyon	Seçili	Seçili
Cell Conditioning (Antijen Ortaya Çıkarma)	CC1, Standart	ULTRA CC1, Standart
Antikor (Primer)	16 dakika, 37 °C	16 dakika, 36 °C
A/B Blok (Biyotin Bloklama)	Gerekli	Gerekli
Karşıt Boya	Hematoxylin II, 4 dakika	Hematoxylin II, 4 dakika
Karşıt Boyama Sonrası	Bluing, 4 dakika	Bluing, 4 dakika

KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ

Pozitif Doku Kontrolü

Uygun laboratuvar uygulamaları, test dokusuyla aynı slayt üzerinde pozitif kontrol kesiti içermektedir. Bu, slayta reaktif uygulamadaki hataları belirlemeye yardımcı olur. Pozitif boyaması zayıf doku, kalite kontrol açısından en uygun olmalıdır.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, test örneklerinin spesifik tanısının belirlenmesinde bir yardımcı olarak değil, yalnızca reaktiflerin ve cihazların performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama ortaya koyamazsa test numunesi sonuçları geçersiz sayılmalıdır.

Gerçekleştirilen her boyama prosedürü için bir pozitif doku kontrolü çalıştırılmalıdır. CAP, hasta slaytında bir pozitif doku kontrolü bulunmasını önermektedir.⁹ CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile pozitif kontrol olarak kullanılacak dokuların bir örneği de, zayıf pozitif meme kansinomudur. Pozitif boyama hücreleri veya doku bileşenleri (tümör hücrelerinin nükleer boyaması) CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun uygulandığını ve cihazın uygun şekilde işlev gösterdiğini teyit etmek için kullanılır. Bu doku, hem pozitif hem de negatif boyama hücre veya doku bileşenleri içerebilir ve hem pozitif hem de negatif kontrol dokusu görevi görebilir. Kontrol dokuları, test kesitleriyle aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede hazırlanmış veya sabitlenmiş taze otopsi, biyopsi numunesi veya cerrahi numuneler olmalıdır. Bu gibi dokular, doku hazırlığından boyamaya kadar prosedürün tüm adımlarını izleyebilir. Test numunesinden farklı şekilde sabitlenmiş veya işlenmiş bir doku kesitinin kullanılması, tüm reaktifler ve fiksasyon ile doku işleme hariç yöntem adımları için kontrol sağlar.

Optimum kalite kontrol sağlamak ve ufak düzeyde reaktif bozulmalarını saptamak için, zayıf pozitif boyamalı bir doku, güçlü pozitif boyamalı bir dokudan daha uygundur.

Sistemin az miktarda reaktif bozulmasına veya IHC metodolojisindeki sorunlara karşı duyarlı olduğundan emin olmak için ideal olarak, zayıf ancak pozitif boyamalı olduğu bilinen bir meme kansinomu dokusu tercih edilmelidir.

Alternatif olarak, pozitif kontrol olarak normal insan proliferatif endometriyum kullanılabilir. Pozitif boyama bileşenleri; glandüler epitellerin ve stromal ve düz kas hücrelerinin nükleer boyamasıdır. Bununla birlikte endometriyal doku, az miktarda reaktif bozulmalarını veya IHC metodolojisi ile ilgili sorunları saptamak için yeterince zayıf düzeyde boyanmayabilir.

Negatif Doku Kontrolü

PR gösterimini ve spesifik arka plan boyamasına (yanlış pozitif boyama) dair bir göstere sağlamak üzere CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun spesifitesini doğrulamak için, her bir boyama işleminde, hasta örnekleriyle aynı şekilde sabitlendiği, işlendiği ve gömüldüğü bilinen bir doku kontrolü kullanın. Ayrıca çoğu doku kesitindeki farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, laborant tarafından CONFIRM anti-PR (1E2) antikor performans özelliklerini doğrulamak için dahili negatif kontrol olarak kullanılabilir. Örneğin, pozitif doku kontrolü için kullanılan dokunun aynı (endometriyum) negatif doku kontrolü olarak kullanılabilir. Boyanmayan bileşenler (sitoplazma, hücre zarı), boyanması beklenmeyen hücrelerde spesifik boyamanın yokluğunu göstermeli ve spesifik arka plan boyamasına dair bir göstere sağlamalıdır. Negatif doku kontrolü sonuçların yorumlanmasında yardımcı olarak da kullanılmalıdır. Çoğu doku kesitinde bulunan farklı hücre türleri, negatif kontrol bölgeleri sağlar ancak bu, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Negatif doku kontrolü bölgelerinde, spesifik boyamanın gerçekleşmesi durumunda hasta numunelerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Negatif Reaktif Kontrolü

Her numune için sonuçların yorumlanmasına yardımcı olacak bir negatif reaktif kontrolü çalıştırılmalıdır. Negatif reaktif kontrolü, non-spesifik boyamayı değerlendirmek ve antijen bölgesinde spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasını sağlamak adına primer antikor yerine kullanılır. Bu, her bir slayt için non-spesifik arka plan boyamasına dair bir göstere sağlar. Primer antikor yerine, slaytı, insan numuneleriyle reaksiyona girmeyen saflaştırılmış, immün olmayan bir tavşan IgG antikoruna olan CONFIRM Negative Control Rabbit Ig ile boyayın. Alternatif bir negatif reaktif kontrolü kullanılıyorsa VENTANA Antibody Diluent kullanarak, primer antikor antiserumu ile aynı oranda seyreltin. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunda yaklaşık %0.2 fetal buzağı serumu tutulur. Spesifik olmayan negatif reaktif kontrolü olarak kullanım için VENTANA Antibody Diluent içine %0.2 oranında fetal buzağı serumu eklenmesi de uygundur. Negatif reaktif kontrolü için inkübasyon süresi, primer antikoruna eşit olmalıdır.

Seri kesitlerde birçok antikordan oluşan paneller kullanıldığında, bir slayttaki negatif reaktif kontrolü, diğer antikorlar için negatif veya spesifik olmayan bağlayıcı bir arka plan kontrolü görevi görebilir.

Tayin Doğrulaması

Bu antikorun bir diagnostik prosedürde ilk kullanımından önce veya lot numarasında bir değişiklik olması halinde, antikorun spesifitesi, performans özellikleri bilinen bir dizi pozitif ve negatif doku boyanarak doğrulanmalıdır. Ürün prospektüsünün bu bölümünde önceden ana hatlarıyla açıklanan kalite kontrol prosedürlerine ve College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist veya CLSI Approved Guideline ya da her iki belgede belirtilen kalite kontrol tavsiyelerine bakın.^{16,17} Bu kalite kontrol prosedürleri, her yeni antikor lotu için veya eşleşen bir sette bulunan reaktiflerin birinde lot numarası değişikliği veya tayin parametrelerinde değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Teşhis amaçlı bir kit kullanılmadan önce, eşleşen reaktiflerin tanımlanmış bir tayin protokolüyle birlikte test edilmesi gerektiğinden kalite kontrolü, tek başına ayrı bir reaktif üzerinde anlamlı bir şekilde gerçekleştirilemez. Beklenen Sonuçların Özeti kısmında listelenen dokular, tayin doğrulaması için uygundur.

Tüm kalite kontrol gereklilikleri, yerel, eyalet ve federal düzenlemeler veya akreditasyon gereklilikleri doğrultusunda yerine getirilmelidir.

BOYAMA YORUMLARI/BEKLENEN SONUÇLAR

Boyama prosedürü, CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde çökecek renkli bir reaksiyon ürününe neden olur. IHC prosedürlerinde deneyimli bir uzman patoloj, sonuçların yorumlanmasından önce pozitif ve negatif kontrolleri ve boyanmış ürünü değerlendirilmelidir. Progesteron reseptörünün durumu, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesine göre belirlenir. Tümör hücrelerinin %1'i veya daha fazlasında çekirdekte boyanma varsa vakanın PR pozitif olduğu kabul edilir.⁹

Pozitif Doku Kontrolü

Tüm reaktiflerin düzgün çalıştığından emin olmak için öncelikle CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanan pozitif doku kontrolü incelenmelidir. Hedef hücrelerin çekirdeklerinde kahverengi (3,3' diaminbenzidin tetraklorür, DAB) reaksiyon ürününün varlığı, pozitif

reaktivitenin göstergesidir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak dokulara bir örnek de, bilinen bir zayıf pozitif meme kansinomudur; örn. $\geq 1\%$ 'lik. Tümör hücrelerinin çekirdekleri pozitif olmalıdır. Yanlış bir pozitif yorumlamadan kaçınmak istiyorsanız nükleer boyamanın pozitif kabul edilmesi zorunludur. Normal insan endometriyumu da kullanılabilir. Normal endometriyumda PR boyaması, endometriyal bezlerin ve stromanın çekirdeklerinde görülür. Pozitif doku kontrolleri uygun pozitif boyama ortaya koymazsa test numunelerinin sonuçları geçersiz sayılmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü

Negatif doku kontrolü, hedef antijenin primer antikor tarafından spesifik etiketlenmesini doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın bulunmaması, hücreler veya selüler bileşenlerde antikor çapraz reaksiyonunun yokluğunu doğrular. Pozitif kontrol olarak kullanılan meme kansinomu, negatif kontrol dokusu olarak da kullanılabilir. Endotelial hücreler gibi PR negatif olduğu bilinen belirli stromal öğeler, nükleer boyama göstermemelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın gerçekleşmesi durumunda hasta numunesinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Mevcutsa non-spesifik boyama dağınık bir görünüme sahiptir. Formalinle aşırı miktarda sabitlenmiş doku kesitlerinde, bağ dokusunda sporadik hafif boyama da gözlemlenebilir. Nekrotik veya dejenere hücreler genellikle non-spesifik boyandıği için boyama sonuçlarını yorumlarken intakt hücreler kullanılmalıdır.¹⁸

Hasta Dokusu

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanmış hasta numuneleri en son incelenmelidir. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün herhangi bir non-spesifik arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. PR, over ve endometriyum kanserleri gibi başka neoplazmalar arasında saptanabilir.¹⁹ Herhangi bir immünohistokimyasal sonucu yorumlarken, her bir doku örneğinin morfolojisi, ayrıca hematoksilin ve eozin boyalı bir kesit kullanılarak da incelenmelidir. Hastanın morfolojik bulguları ve ilgili klinik verileri uzman bir patoloğ tarafından yorumlanmalıdır. İmmünoreaktivite hakkında spesifik bilgiler için Özet ve Açıklama, Kısıtlamalar ve Beklenen Sonuçların Özeti kısımlarına bakın.

KISITLAMALAR

Genel Kısıtlamalar

- IHC, uygun reaktiflerin ve dokuların seçimi, fiksasyonu, işleme, immünohistokimya slaytının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması konusunda özel eğitim gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir.
- Doku boyaması, dokunun boyanmadan önceki kullanımı ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit çıkarma veya başka doku ya da sıvıların kontaminasyonu, artefaktlara, antikor hapsolmesine veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıkların veya doku içindeki yapısal düzensizliklerin bir sonucu olabilir.
- Aşırı veya eksik karşıt boyama, sonuçların uygun şekilde yorumlanmasını engelleyebilir.
- Herhangi bir pozitif boyamanın veya pozitif boyama bulunmamasının klinik yorumlaması, klinik geçmiş, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında değerlendirilmelidir. Her türlü boyamanın veya boyama bulunmamasının klinik yorumlaması, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerin yanı sıra başka diagnostik testler ile tamamlanmalıdır. Bu antikor, bir antikor panelinde kullanıma yöneliktir. Boyalı preparatı hazırlamak için kullanılan antikorlar, reaktifler ve yöntemlere aşina olmak, uzman patoloğun sorumluluğundadır. Boyama, sertifikalı ve ruhsatlı bir laboratuvarında, boyalı slaytların incelenmesinden ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini sağlamakla sorumlu bir patoloğ gözetiminde gerçekleştirilmelidir.
- Ventana, verilen talimatlar izlendiğinde, kullanım için en uygun seyreltme oranında antikorlar ve reaktifler sağlar. Önerilen test prosedürlerinden her türlü sapma, beklenen sonuçları geçersiz kılabilir. Uygun kontroller kullanılmalı ve belgelenmelidir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanmasına ilişkin sorumluluğu kabul etmelidir.
- Bu ürün, akış sitometrisinde kullanıma yönelik değildir; performans özellikleri belirlenmemiştir.
- Reaktifler, önceden test edilmemiş dokularda beklenmedik reaksiyonlar sergileyebilir. Neoplazmalardaki antijen ekspresyonunun veya diğer patolojik dokuların biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilmiş doku gruplarında dahi, beklenmeyen reaksiyon görülme olasılığı tamamen elimine edilemez.²⁰ Beklenmeyen reaksiyonları belgeleyerek yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

- Hepatit B virüsü ile enfekte olan kişilerden alınan ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren dokular, yaban turpu peroksidazı ile non-spesifik boyama sergileyebilir.²¹
- Bloklaama adımlarında kullanıldığında, sekonder antiserum ile aynı hayvansal kaynaktan elde edilen normal serum, otoantikolar veya doğal antikolar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
- Yanlış pozitif sonuçlar, proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin nonimmünojenik bağlanması nedeniyle görülebilir. Bunlar, kullanılan immünoboyama tipine bağlı olarak, psödoperoksidaz aktivitesi (eritrositler), endojen peroksidaz aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biyotinden de (örneğin: karaciğer, beyin, meme, böbrek) kaynaklanabilir.¹⁸
- Her IHC testinde olduğu gibi negatif bir sonuç, antijenin test edilen hücrelerde veya dokularda bulunmadığı değil, saptanamadığı anlamına gelir.

Özel Kısıtlamalar

- Antikor, VENTANA saptama kiti ve aksesuarları ile birlikte, formalin fiksasyonu, doku işleme ve kesit çıkarma sonrasında kalan antijeni saptar. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanması ve onaylanmasından sorumludur.
- CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun negatif sonuç vermesi, PR varlığını ihtimal dışı bırakmaz. Meme kansinomunda görülen negatif reaksiyonlar, antijen ekspresyonunun kaybolmasından veya ekspresyonda belirgin bir azalmadan kaynaklı olabilir. Dolayısıyla, bu antikorun, östrojen reseptörü içeren antikordardan oluşan bir panelde kullanılması önerilir.
- Bademcik dokusunda, 1E2 antikorunu ile pozitif nükleer boyama görülmüştür.²² Bademcik, CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile bir kullanım endikasyonu değildir. Dolayısıyla, negatif doku kontrolü olarak bademcik dokusu kullanılırsa bademcik dokuları, negatif boyama vakasının seçildiğinden emin olmak için taranmalıdır.

Tüm tاینler her cihaz üzerinde kayıtlı olmayabilir. Daha fazla bilgi için lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

ANALİTİK PERFORMANS

Hassasiyet, spesifite ve kesinlikle ilgili boyama testleri yürütülmüştür ve sonuçları aşağıda listelenmiştir.

Hassasiyet ve Spesifite

CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun hassasiyeti ve spesifitesi, normal insan dokularından oluşan birden fazla vakanın boyanmasıyla belirlenmiştir. Sonuçlar, Tablo 4 ve Tablo 5'te listelenmektedir. Beklenmedik negatif boyama gösteren bir yumurtalık vakası ile birlikte, incelenen tüm dokularda pozitif boyama nükleer olmuştur. Tiroid dokusunda pozitif boyama gözlemlenmiş olup daha önce belirtilmiştir.²³ Antikorunu 1E2 ile pozitif nükleer boyama bademcik dokusunda görülmüştür.²²

Tablo 4. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun hassasiyeti/spesifitesi, FFPE normal dokuların test edilmesiyle belirlenmiştir.

Doku	Pozitif/ toplam vaka sayısı	Doku	Pozitif/ toplam vaka sayısı
Serebrum	0/5	Özofagus	0/3
Serebellum	0/3	Mide	0/3
Adrenal bez	0/3	İnce bağırsak	0/3
Yumurtalık	2/3	Kolon	0/3
Pankreas	3/3	Karaciğer	0/3
Paratiroit bezi	0/4	Tükürük bezi	0/3
Hipofiz bezi	3/3	Böbrek	0/3
Testis	0/3	Prostat	1/3
Tiroid	0/5	Mesane	0/5
Meme ^a	4/4	Endometriyum	1/3
Dalak	1/3	Rahim boynu	8/8

Doku	Pozitif/toplam vaka sayısı	Doku	Pozitif/toplam vaka sayısı
Bademcik	1/3	İskelet kası	0/5
Timüs	0/3	Deri	0/3
Kemik iliği	0/3	Sinir	0/3
Akciğer	0/3	Mezotelyum	0/3
Kalp	0/3		

^a Doku fibro yağlı dokuyu içerir.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun immünreaktivitesi, neoplastik insan dokularından oluşan birden fazla vakanın boyanmasıyla belirlenmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az \geq %1'inde çekirdekte boyama görülen vakalar PR pozitif olarak kabul edilmiştir.

Tablo 5. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun hassasiyeti/spesifitesi, çeşitli FFPE neoplastik dokuların test edilmesiyile belirlenmiştir.

Patoloji	Pozitif/toplam vaka sayısı
Gliyoblastom (Serebrum)	0/1
Menenjiyom (Serebrum)	0/1
Ependimom (Serebrum)	0/1
Oligodendrogliyom (Serebellum)	0/1
Seröz adenokarsinom (Yumurtalık)	1/1
Müsinöz adenokarsinom (Yumurtalık)	0/1
Nöroendokrin neoplazma (Pankreas)	1/1
Adenokarsinom (Pankreas)	0/1
Seminom (Testis)	0/1
Embriyonal karsinom (Testis)	0/1
Medüller karsinom (Tiroit)	1/1
Papiller karsinom (Tiroit)	0/1
İn situ duktal karsinom (Meme)	1/1
İnvaziv duktal karsinom (Meme)	0/1
B hücreli lenfoma; NOS (Dalak)	0/1
Küçük hücreli karsinom (Akciğer)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Akciğer)	0/1
Adenokarsinom (Akciğer)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Özofagus)	0/1
Adenokarsinom (Özofagus)	0/1
Müsinöz adenokarsinom (Mide)	0/1
Adenokarsinom (Bağırsak)	0/1
Adenokarsinom (Kolon)	0/1
Malign karışık mezenkimal neoplazma (Kolon)	0/1
Adenokarsinom (Rektum)	0/1
Malign karışık mezenkimal neoplazma (Rektum)	0/1
Melanom (Rektum)	0/1
Hepatoselüler karsinom (Karaciğer)	0/1
Hepatoblastom (Karaciğer)	0/1
Berrak hücreli karsinom (Böbrek)	0/1

Patoloji	Pozitif/toplam vaka sayısı
Adenokarsinom (Prostat)	1/1
Ürotelyal karsinom (Prostatik üretra)	1/1
Leyomyiom (Rahim)	1/1
Adenokarsinom (Rahim)	1/2
Berrak hücreli karsinom (Rahim)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Rahim boynu)	1/1
Embriyonal rabdomiyosarkom (Çizgili kas)	0/1
Skuamöz hücreli karsinom (Çizgili kas)	0/1
Bazal hücreli karsinom (Deri)	0/1
Nörofibrom (Mediastin)	1/1
Nöroblastom (Retropériton)	1/1
Mezotelyom (Periton)	0/1
Hodgkin lenfoma (Lenf düğümü)	0/1
Lenfoma; NOS (Lenf düğümü)	0/2
B hücreli lenfoma, NOS (Lenf düğümü)	0/1
Ürotelyal karsinom (Mesane)	0/1

Hassasiyet, antijenin korunmasına bağlıdır. Fiksasyon, kesit çıkarma, gömme veya saklama sırasında, antijenisiteyi değiştiren her türlü uygunsuz doku kullanımı, CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile PR saptamasını olumsuz yönde etkiler ve yanlış negatif sonuçlara neden olabilir.

BenchMark XT ve BenchMark ULTRA Cihazı Kesinliği

Tekrar edilebilirlik testinin bir parçası olarak altı ayrı doku vakası boyanmıştır. Altı dokudan iki tanesinde yüksek PR ekspresyonu, iki tanesinde düşük PR ekspresyonu görülmüş ve iki tanesi, düşük ekspresyon için %1–10 ve yüksek ekspresyon için $>$ %10 olmak üzere, negatif için $<$ %1'lik bir tümör hücresi boyama kesme noktasına dayalı olarak PR negatif olmuştur.

İşlem içi tekrarlanabilirlik testi için, bir BenchMark XT cihazında, her vakadan 9 slayt CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna ile boyanmıştır. Aynı test yapılandırması BenchMark ULTRA cihazında da gerçekleştirilmiştir. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun hem BenchMark XT hem de BenchMark ULTRA cihazlarındaki işlem içi tekrarlanabilirliği, altı vakadaki pozitif dokuların tümü için %100 uyum sergilemiştir.

Günler arası ara kesinlik testi için, aynı BenchMark XT cihazında, 20 günlük bir süre içinde, ardışık olmayan beş ayrı çalışma halinde her vakadan dört slayt CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna ile boyanmıştır. Aynı test yapılandırması BenchMark ULTRA cihazında da gerçekleştirilmiştir. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun hem BenchMark XT hem de BenchMark ULTRA cihazlarındaki günler arası ara kesinliği, altı vakadaki pozitif dokuların tümü için %100 uyum sergilemiştir.

BenchMark XT cihazlar arası ara kesinlik testi için altı vakadan 4 slayt, üç ayrı BenchMark XT cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanmıştır. Her vakadan tek bir slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna ile boyanmıştır. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun üç BenchMark XT cihazlarındaki cihazlar arası ara kesinliği, altı vakanın tümünde %100 uyum sergilemiştir.

BenchMark ULTRA cihazlar arası ara kesinlik testi için altı vakadan 4 slayt, üç ayrı BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruna ile boyanmıştır. Her vakadan tek bir slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoruna ile boyanmıştır. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun üç BenchMark ULTRA cihazlarındaki cihazlar arası ara kesinliği, altı vakanın tümünde %100 uyum sergilemiştir.

Tüm tekrarlanabilirlik testleri başarılı olmaya ilişkin kabul kriterlerini karşılamıştır.

BenchMark ULTRA PLUS Cihazı Kesinliği

Kesinlik testinin bir parçası olarak dokuz ayrı doku vakası boyanmıştır. Dokuz dokudan üç tanesinde yüksek PR ekspresyonu, üç tanesinde düşük PR ekspresyonu görülmüş ve üç

tanesi, düşük ekspresyon için %1–10 ve yüksek ekspresyon için > %10 olmak üzere, negatif için < %1'lik bir tümör hücresi boyama kesme noktasına dayalı olarak PR negatif olmuştur.

İşlem içi tekrarlanabilirlik testi için, bir BenchMark ULTRA PLUS cihazında, her vakadan beş slayt CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru ile boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoru ile boyanmıştır. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorumun BenchMark ULTRA PLUS cihazında işlem içi tekrarlanabilirliği %100 uyum sergilemiştir. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar sinyal ve arka plan için kabul edilebilirdir.

Günlük arası ara kesinlik testi için, aynı BenchMark ULTRA PLUS cihazında, 20 günlük bir süre içinde, beş ayrı ardışık olmayan çalışma halinde her vakadan iki slayt CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru ile boyanmış ve her bir vakadan birer slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoru ile boyanmıştır. CONFIRM anti-PR (1E2) antikorumun BenchMark ULTRA PLUS cihazında günlük arası ara kesinliği %97.8 uyum sergilemiştir. CONFIRM Negative Control Rabbit Ig boyalı slaytlar sinyal ve arka plan için kabul edilebilirdir.

BenchMark ULTRA PLUS cihazlar arası ara kesinlik testi için her bir vakadan iki slayt, üç ayrı BenchMark ULTRA PLUS cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru ile boyanmıştır. Her vakadan tek bir slayt CONFIRM Negative Control Rabbit Ig antikoru ile boyanmıştır. Üç BenchMark ULTRA PLUS cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikorumun cihazlar arası ara kesinliği, %98.1 uyum sergilemiştir.

Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru için 14 meme kanseri slayt (8 pozitif, 2 düşük pozitif, 4 negatif) işlemi kullanılarak, 3 BenchMark XT cihazında ve 3 BenchMark ULTRA cihazında, *VIEW DAB* saptaması ve *ultraView* Universal DAB Detection Kit kullanılarak, 3 harici laboratuvarında minimum 20 günlük bir süre boyunca, ardışık olmayan 5 günün her birinde bir Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik çalışması gerçekleştirilmiştir. Numuneler randomize edilmiş ve toplam 6 patoloj (her bölgede 2 patoloj) tarafından boyalı tümör hücrelerinin yüzdesi açısından değerlendirilmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az %1'inde çekirdekte boyama görülen vakalar PR pozitif olarak kabul edilmiştir.⁹

Tesisler Arası kesinlik için, CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru klinik değerlendirmesi için ortalama pozitif uyum (APA) ve ortalama negatif uyum (ANA) oranları, *VIEW* saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %99.7 ve %99.1; *ultraView* Universal DAB Detection Kit ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %98.6 ve %95.4; *VIEW* saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %99.4 ve %98.4; *ultraView* Universal DAB Detection Kit ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %97.4 ve %91.3 olmuştur.

Günlük arası kesinlik için, CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru klinik değerlendirmesi için APA ve ANA oranları, *VIEW* saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %99.7 ve %99.1; *ultraView* Universal DAB Detection Kit ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %98.5 ve %95.5; *VIEW* saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %99.3 ve %98.3; *ultraView* Universal DAB Detection Kit ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %97.0 ve %90.8 olmuştur.

Okuyucular arası kesinlik için, CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru klinik değerlendirmesi için APA ve ANA, *VIEW* saptaması ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %99.7 ve %99.1; *ultraView* Universal DAB Detection Kit ile BenchMark ULTRA cihazında sırasıyla %98.6 ve %95.6; *VIEW* saptaması ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %99.3 ve %98.3; *ultraView* Universal DAB Detection Kit ile BenchMark XT cihazında sırasıyla %98.6 ve %95.1 olmuştur.

BenchMark ULTRA ve BenchMark XT cihazlarındaki platformlar arası kesinlik için, APA ve ANA oranları *VIEW* saptaması için sırasıyla %99.5 ve %98.7 iken *ultraView* Universal DAB Detection Kit için sırasıyla %98.0 ve %93.9 olmuştur.

Platform içi kesinlik için, APA ve ANA oranları BenchMark ULTRA cihazı için sırasıyla %98.7 ve %96.4 iken BenchMark XT cihazı için sırasıyla %97.4 ve %92.6 olmuştur.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru kullanılarak *VIEW DAB* Detection Kit ve *ultraView* Universal DAB Detection Kit karşılaştırması.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru iki cihazda (BenchMark XT ve BenchMark ULTRA cihazı), *VIEW DAB* Detection Kit ve *ultraView* Universal DAB Detection Kit kullanılarak saptama karşılaştırma testi yapmak üzere kullanılmıştır. Test kapsamında 199 doku vakası kullanılmıştır. Boyalı tümör hücrelerinin bir fonksiyonu olarak, vakaların yaklaşık yarısı pozitif, yarısı ise negatif olmuştur. Boyalı slaytlar, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesini belirleyen patolojlar tarafından değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinin en az %1'inde çekirdekte boyama görülen vakalar PR pozitif olarak kabul edilmiştir.

Arka plan kabul edilebilirlik oranı %99.5 olan BenchMark ULTRA cihazında *ultraView* Universal DAB Detection Kit kullanımı hariç olmak üzere, hem saptama kriteri hem de

cihazlar için morfoloji ve arka plan kabul edilebilirlik oranları %100 olmuştur. Her platform için saptama kriteri arasındaki pozitif ve negatif klinik değerlendirmenin doğrudan karşılaştırmaları, BenchMark ULTRA cihazı için Tablo 6 içinde ve BenchMark XT cihazı için Tablo 7 içinde sunulmaktadır.

Tablo 6. BenchMark ULTRA Cihazı ile, *ultraView* Universal DAB Detection Kit ve *VIEW DAB* Detection Kit kriterinin karşılaştırmalı klinik değerlendirmesi.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW DAB</i> Detection Kit		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	94	11	105
Negatif	2	86	88
Toplam	96	97	193
	n/N	% (95% CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	94/96	97.9 (92.7–99.4)	
Negatif uyum yüzdesi	86/97	88.7 (80.8–93.5)	
Genel uyum yüzdesi	180/193	93.3 (88.8–96.0)	

Tablo 7. BenchMark XT Cihazı ile, *ultraView* Universal DAB Detection Kit ve *VIEW DAB* Detection Kit kriterinin karşılaştırmalı klinik değerlendirmesi.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW DAB</i> Detection Kit		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	91	14	105
Negatif	2	86	88
Toplam	93	100	193
	n/N	% (95% CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	91/93	97.8 (92.5–99.4)	
Negatif uyum yüzdesi	86/100	86.0 (77.9–91.5)	
Genel uyum yüzdesi	177/193	91.7 (87.0–94.8)	

Her iki cihaz için saptama kriteri arasındaki klinik değerlendirme uyumu, sırasıyla BenchMark ULTRA ve BenchMark XT cihazları için %93.3'te (n=193) ve %91.7'de (n=193) %90'ın üzerinde olmuştur. *ultraView* Universal DAB Detection Kit, *VIEW DAB* Detection Kit ile karşılaştırıldığında %90.2 (n=193) ve %85.5 (n=193) boyama skoru uyum oranları elde edilmiştir.

BenchMark ULTRA Cihazı ile BenchMark ULTRA PLUS Cihazının Karşılaştırılması

CONFIRM anti-PR (1E2) antikorumun boyama performansını BenchMark ULTRA PLUS cihazında ve BenchMark ULTRA cihazında karşılaştırmak için bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Yüz otuz dört (134) meme kanserine doku vakası (61 PR pozitif, 61 PR negatif ve 12 PR sınırda pozitif), tayinin klinik aralığını temsil etmektedir. Boyalı slaytlar, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesini belirleyen patolojlar tarafından değerlendirilmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az %1'inde çekirdekte boyama görülen vakalar PR pozitif olarak kabul edilmiştir.⁹ BenchMark ULTRA cihazı ve BenchMark ULTRA PLUS cihazı arasında pozitif ve negatif PR durumunun doğrudan karşılaştırması Tablo 8 içinde sunulmaktadır.

Tablo 8. BenchMark ULTRA PLUS cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru ve BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikoru (sınırdaki pozitif vakalar hariç).

BenchMark ULTRA PLUS cihazı	BenchMark ULTRA cihazı		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	79	2	81
Negatif	6	23	29
Toplam	85	25	110

BenchMark ULTRA PLUS cihazı	BenchMark ULTRA cihazı		
	Pozitif	Negatif	Toplam
	n/N	% (95% CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	79/85	92.9 (85.4–96.7)	
Negatif uyum yüzdesi	23/25	92.0 (75.0–97.8)	
Genel uyum yüzdesi	102/110	92.7 (86.3–96.3)	

Bu çalışmada boyanan tüm slaytlar için morfoloji kabul edilebilirliği oranı BenchMark ULTRA PLUS cihazı için %100.0 (%95 C.I., %97.2–%100.0) olmuştur. BenchMark ULTRA PLUS cihazı için arka plan kabul edilebilirlik oranı %100.0 (%95 C.I., %97.2–%100.0) olmuştur.

KLİNİK PERFORMANS

CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun FLEX anti-PR (PgR 636) ile karşılaştırması.

BenchMark ULTRA cihazında ve BenchMark XT cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun boyama performansını, Dako Autostainer Plus cihazında Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR (PgR 636)) ile karşılaştırmak için randomize, çok tesisi, çok okuyuculu bir çalışma gerçekleştirilmiştir. BenchMark IHC/ISH cihazlarında, endojen biyotin VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit kullanılarak bloke edilmiştir. Antikor, M/IEW DAB Detection Kit kullanılarak saptanmıştır. Dako platformunda antikor, EnVision Flex, High pH saptaması kullanılarak saptanmıştır. Tayinin klinik aralığını temsil eden yaklaşık 120 negatif ve 216 pozitif meme kanseri vakası, her tesis eşit sayıda vaka kabul edecek ve her tesis her bir klinik değerlendirme kategorisini temsil eden vakalar kabul edecek şekilde üç çalışma tesisine rastgele olarak atanmıştır. Her bir bölge, tahsis edilen vakalarını BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikor, BenchMark XT cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikor ve Dako Autostainer Plus cihazında FLEX anti-PR (PgR 636) ile boyamıştır. Boyalı slaytlar, boyalı tümör hücrelerinin yüzdesini belirleyen patoloğlar tarafından değerlendirilmiştir. İnvaziv tümör hücrelerinin en az $\geq 1\%$ inde çekirdekte boyama görülen vakalar PR pozitif olarak kabul edilmiştir.⁹

Tablo 9. BenchMark ULTRA Cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun Dako Autostainer Plus Cihazında FLEX anti-PR (PgR 636) ile Karşılaştırması.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikor	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif:	200	7	207
Negatif:	9	104	113
Toplam:	209	111	320
	n/N	% (95% CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	200/209	95.7 (92.0–97.7)	
Negatif uyum yüzdesi	104/111	93.7 (87.6–96.9)	
Genel uyum yüzdesi	304/320	95.0 (92.0–96.9)	

Tablo 10. BenchMark XT Cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikorunun Dako Autostainer Plus Cihazında FLEX anti-PR (PgR 636) ile Karşılaştırması.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikor	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif:	186	9	195
Negatif:	18	100	118
Toplam:	204	109	313
	n/N	% (95% CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	186/204	91.2 (86.5–94.3)	
Negatif uyum yüzdesi	100/109	91.7 (85.0–95.6)	

CONFIRM anti-PR (1E2) antikor	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Genel uyum yüzdesi	286/313	91.4 (87.7–94.0)	

BenchMark ULTRA ve BenchMark XT cihazlarında CONFIRM anti-PR (1E2) antikor boyaması, Dako Autostainer Plus cihazında FLEX anti-PR (PgR 636) ile karşılaştırıldığında pozitif, negatif ve genel uyum oranlarının tümü (tüm tesislerde havuz toplanan) %90'ın üzerinde olmuştur.

Tablo 11. BenchMark ULTRA Cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikor, BenchMark XT Cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikoruyla karşılaştırılmıştır.

BenchMark ULTRA Cihazı	BenchMark XT Cihazı		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif:	184	12	196
Negatif:	6	105	111
Toplam:	190	117	307
	n/N	% (95% CI)	
Pozitif uyum yüzdesi	184/190	96.8 (93.3–98.5)	
Negatif uyum yüzdesi	105/117	89.7 (82.9–94.0)	
Genel uyum yüzdesi	289/307	94.4 (90.9–96.3)	

BenchMark ULTRA cihazında CONFIRM anti-PR (1E2) antikor boyaması, BenchMark XT cihazıyla karşılaştırıldığında pozitif, negatif ve genel uyum oranlarının tümü %89'un üzerinde olmuştur.

Bu çalışmada boyanan tüm slaytlar için morfoloji kabul edilebilirliği oranları BenchMark ULTRA cihazında %99.7 (%95 C.I., %98.3–%99.9) ve BenchMark XT cihazında %96.1 (%95 C.I., %93.5–%97.7) olmuştur. Arka plan kabul edilebilirliği oranları BenchMark ULTRA cihazında %99.4 (%95 C.I., %97.9–%99.8) ve BenchMark XT cihazında %95.2 (%95 C.I., %92.4–%97.0) olmuştur.

SORUN GİDERME

1. Pozitif kontrol, beklenenden daha zayıf boyama sergilerse sorunun primer antikordan mı ortak sekonder reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek için diğer pozitif kontrollerin eş zamanlı çalıştığını kontrol edin.
2. Pozitif kontrol negatifse slaytın uygun barkod etiketine sahip olduğundan emin olun. Slayt uygun şekilde etiketlenmişse sorunun primer antikordan mı ortak sekonder reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek için diğer pozitif kontrollerin eş zamanlı çalıştığını kontrol edin. Dokular uygun olmayan şekilde toplanmış, sabitlenmiş veya deparafinizasyona tabi tutulmuş olabilir. Toplama, saklama ve fiksasyon için uygun prosedürü izleyin.
3. Aşırı arka plan boyaması görürse yüksek seviyede endojen biyotin mevcut olabilir. Bir biyotin blokama adımı dahil edilmelidir.
4. Parafinin tamamı giderilmemişse deparafinizasyon prosedürünü tekrarlayın.
5. Spesifik antikor boyaması çok yoğunsa çalıştırmayı, primer antikor inkübasyon süresi istenen boyama yoğunluğunu elde etmek adına 4 dakikalık aralıklarla kısaltılmış olarak tekrarlayın.
6. Doku kesitleri slayttan çıkarsa pozitif yüklü olduklarından emin olmak için slaytları kontrol edin.
7. Düzeltilici eylem için cihazın Kullanıcı Kılavuzunda Adım Adım Prosedür kısmına bakın veya yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

REFERANSLAR

1. Kariagina A, Aupperlee MD, Haslam SZ. Progesterone receptor isoform functions in normal breast development and breast cancer. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2008;18(1):11-33.
2. Grimm SL, Hartig SM, Edwards DP. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. J Mol Biol. 2016;428(19):3831-3849.
3. Tanos T, Rojo L, Echeverria P, et al. ER and PR signaling nodes during mammary gland development. Breast Cancer Res. 2012;14(4):210.

4. Torre LA, Islami F, Siegel RL, et al. Global Cancer in Women: Burden and Trends. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2017;26(4):444-457.
5. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2019.
6. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Ann Oncol. 2013;24(9):2206-2223.
7. Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. Rev Endocr Metab Disord. 2007;8(3):229-239.
8. Horwitz KB, McGuire WL. Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. Science. 1975;189(4204):726-727.
9. Hammond ME, Hayes DF, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. Arch Pathol Lab Med. 2010;134(6):907-22.
10. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, et al. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. J Clin Oncol. 2003;21(10):1973-1979.
11. Ravdin PM, Green S, Dorr TM, et al. Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. J Clin Oncol. 1992;10(8):1284-1291.
12. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
13. Occupational Safety and Health Standard: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
14. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
15. Roche PC, His ED. 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.

NOT: Bu belgede, ondalık bir sayının tam sayı ve kesir kısımlarını ayırmak için ondalık ayırıcı olarak her zaman nokta kullanılmıştır. Binlik basamaklar için ayırıcı kullanılmamıştır.

Güvenlik ve performans özeti burada bulabilirsiniz:

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

Semboller

Ventana, ISO 15223-1 standardında listelenenlere ek olarak aşağıdaki sembol ve işaretleri kullanmaktadır (USA için: daha fazla bilgi için elabdoc.roche.com/symbols adresine bakın).



Küresel Ticari Ürün Numarası

Rx only

USA için: Dikkat: Federal yasa bu cihazın satışını bir doktora veya doktor siparişiyle yapılacak şekilde sınırlamaktadır.

REVİZYON GEÇMİŞİ

Rev	Güncellemeler
H	Tablo 8 referansında düzeltme yapıldı. Mevcut şablon güncellendi.

FİKRİ MÜLKİYET

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM ve ULTRAVIEW, Roche şirketinin ticari markalarıdır. Tüm diğer ürün adları ve ticari markalar, ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir. © 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

İLETİŞİM BİLGİLERİ



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

