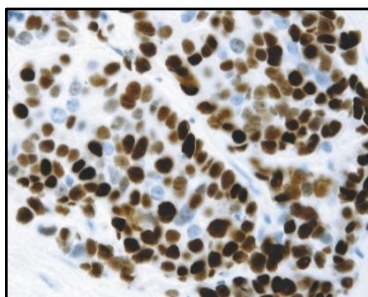


CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF	790-2223	Σ	50
	05277990001		
REF	790-4296	Σ	250
	05278392001		

IVD



1. pav. CONFIRM anti-PR (1E2) krūties duktalinės karcinomos antikūnų dažymas.

PASKIRTIS

„CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal (IgG) Primary Antibody“ yra skirtas naudoti laboratorijoje kokybiniam progesterono receptoriaus (PR) antigeno aptikimui formalinu fiksuotose, parafine įterptuose audinio pjūviuose VENTANA automatinėje objektyvų stiklėlių dažymo sistemoje naudojant VENTANA aptikimo rinkinius ir pagalbinis reagentus. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ yra nukreiptas prieš epitopą, esantį ant žmogaus progesterono receptoriaus baltymo, esančio PR

teigiamų normalių ir neoplastinių ląstelių branduolyje. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ naudojamas kaip pagalbinė priemonė krūties karcinomai valdyti, prognozuoti ir hormonų terapijai numatyti.

Naudojant šį gaminį gaunamą rezultatą turi vertinti kvalifikuotas patologas, atsižvelgdamas į histologinį tyrimą, susijusią klinikinę informaciją ir tinkamas kontrolės priemonės.

Naudoti tik pagal receptą.

Šis antikūnas skirtas in vitro diagnostikai (IVD).

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

„CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas) yra Rabbit (triušio) monokloninis antikūnas, atpažįstantis žmogaus progesterono receptoriaus (PR) A ir B izoformas. Imunogenas buvo sukurtas iš sintetinio peptido, nustatytas kaip potencialiai aukšto antigeniškumo sritis, būdinga progesterono receptoriaus A ir B formoms. Peptidas buvo susintetintas ir kovalentiškai susietas su raktų skylutės moliuskos hemocianinu, kad dar labiau padidėtų antigeniškumas. Buvo nustatyta, kad „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas reaguoja su 60 kD, 87 kD ir 110 kD baltymais iš T47D ląstelių naudojant Western blottingo metodą. Baltymų dydžių atitinka numatomą progesterono receptorių A, B ir C formų molekulinę masę.¹

PR yra branduolio hormonų receptoriaus, koduotas vienu genu (PGR).^{1,2} PR aktyvumas reguliuojamas artimai susijusių branduolio hormonų receptorių – estrogeno receptorių (ER). Suderinti ER ir PR veiksmas skatina normalų pieno liaukų vystymąsi ir yra būtini diferenciacijai bei proliferacijai suaugusio žmogaus krūties epitelyje.^{1,2,3}

Krūties vėžys yra dažniausiai pasitaikantis vėžys, susijęs su moterų mirtimi.⁴ Ligos diagnozė ir gydymas priklauso nuo ankstyvo aptikimo ir patikimos strategijos, pagal kurią pacientams skiriamas tinkamas gydymas, remiantis prognozuojamais ir numatomais veiksniais.^{5,6} Nustatytas krūties vėžio diagnozavimas yra fizinio tyrimo, vizualizavimo ir pataloginio įvertinimo derinys.⁵

ER yra vienas iš tipinių vėžio žymenų, naudojamų valdant krūties vėžiu sergančius pacientus. Klinikinėse gairėse ir geriausios praktikos rekomendacijose numatyta, kad ER būklė turėtų būti įvertinta kiekvienu pirminio invazinio krūties vėžio atveju, kad būtų nustatyti pacientai, kurie dažniausiai reaguoja į endokrinines gydymo formas.^{5,6} Selektyvūs estrogenų receptorių modulatoriai blokuoja estrogenų medijuojamą vėžio augimą mažindami ER hiperaktyvumą ir yra naudojami kaip endokrininė terapija pacientams su pernelyg išreikštais receptoriais.^{6,7}

Praktikoje beveik pusė ER teigiamų pacientų organizmas nereaguoja į endokrininį gydymą, šis poveikis siejamas su piktybine receptoriaus transformacija vėžiuose pažeidimuose.⁸ Padidėjusi PR ekspresija gali būti naudojama krūties navikui apibūdinti bei prognozuoti terapinį atsaką ir veikia kaip rodiklis funkciniai ER būsenai įvertinti.^{8,9} 1975 m. buvo iškelta hipotezė, kad padidėjusi PR ekspresija gali būti naudojama kaip atsako į endokrininę terapiją numatomas žymuo.⁸ Vėlesnių tyrimų rezultatai patvirtino numatomą ir prognostinę PR reikšmę.^{10,11} Aukštesnio lygio PR ekspresija reiškia geresnį atsaką į endokrininę terapiją.¹⁰

PR aptikimas yra pagrindinis veiksnys valdant invazine krūties karcinoma sergančius pacientus.^{5,6,9} Gairėse ir geriausios praktikos rekomendacijose pabrėžiama, kad imunohistocheminiai (IHC) metodai yra rekomenduojami norint aptikti PR krūties vėžio atveju.⁹ Dėl šios priežasties IHC metodu pagrįstas PR aptikimas naudojant „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūną gali būti naudojamas kaip pagalbinė priemonė valdant ir prognozuojant krūties karcinomą bei numatant jos gydymo rezultatus.

PROCEDŪROS PRINCIPAS

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas prisijungia prie PR formaline fiksuotose ir parafine įterptuose (FFPE) audinių pjūviuose. Tam tikras antikūnas gali būti lokalizuotas naudojant biotinu konjuguoto antrinio antikūno junginį, kuris atpažįsta triušio imunoglobulinus, paskui pridėdamas streptavidino ir krienų peroksidazės (HRP) konjugatą („VIEW DAB Detection Kit“) arba antrinio antikūno ir HRP konjugatą („ultraView Universal DAB Detection Kit“). Tada specifinis antikūno ir fermento kompleksas vizualizuojamas naudojant nusodintą fermentinės reakcijos produktą.

Klinikiniai atvejai turi būti vertinami atsižvelgiant į atitinkamų kontrolinių medžiagų veikimą. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) rekomenduoja naudoti teigiamą audinių kontrolinę medžiagą, fiksuotą ir apdorotą taip pat, kaip ir paciento mėginys (pavyzdžiui, silpnai teigiamą krūties karcinomą ar gimdą). Be „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno nudažyto objektyvino stiklėlio taip pat reikia naudoti antrą objektyvino stiklį, nudažytą „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“. Kad tyrimas būtų laikomas tinkamu, teigiamame kontroliniame audinyje turi nusidažyti naviko ląstelių arba gimdos liaukų ir stromos branduoliai. Šie komponentai turi būti neigiami, kai dažoma naudojant „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“. Be to, rekomenduojama neigiamo kontrolinio audinio objektyvino stiklį (pvz., PR neigiamą krūties karcinomą) įtraukti į kiekvieną mėginių partiją, kuri buvo apdorota ir iširta naudojant „BenchMark IHC/ISH“ prietaisą. Ši neigiamą audinio kontrolę turi būti nudažyta „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu, kad užtikrintumėte, jog dėl antigenų patobulinimų ir kitų pirminio apdorojimo procedūrų nebus gautas klaidingai teigiamas nudažymas.

RINKINYJE ESANTI MEDŽIAGA

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno (kat. Nr. 790-2223) rinkinyje esančio reagento pakanka 50 tyrimų.

Viename 5 mL „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno dozatoriuje yra maždaug 5 µg triušio monokloninio antikūno, nukreipto prieš žmogaus PR antigeną.

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno (kat. Nr. 790-4296) rinkinyje esančio reagento pakanka 250 tyrimų.

Viename 25 mL „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno dozatoriuje yra maždaug 25 µg triušio monokloninio antikūno, nukreipto prieš žmogaus PR antigeną.

Antikūnas atskiedžiamas „Tris-HCl“ su nešančiuoju baltymu ir 0.1 % „ProClin 300“ konservantu. Jame yra JAV kilmės fetalinio veršelių serumo pėdsakų (~ 0.2 %) iš pradinio tirpalo.

Specifinio antikūno koncentracija yra maždaug 1 µg/mL. Nenustatyta jokio nespecifinio antikūno reaktyvumo šiame gaminyje.

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas yra triušio monokloninis antikūnas, gaminamas kaip ląstelių kultūros supernatantas.

Išsamesnius aprašymus toliau nurodytomis temomis rasite atitinkamame VENTANA aptikimo rinkinio metodo lape: procedūros principas, medžiaga ir metodai, mėginių paėmimas ir paruošimas analizei, kokybės kontrolės procedūros, trikčių diagnostika, rezultatų interpretavimas ir apribojimai.

REIKALINGOS, TAČIAU Į RINKINĮ NEJEINANČIOS MEDŽIAGOS

Dažymo reagentai, tokie kaip VENTANA aptikimo rinkiniai ir pagalbiniai komponentai, įskaitant neigiamą ir teigiamą audinio kontrolinio stiklėlius, į rinkinį neįeina.

Kai kurie metodo lape išvardyti gaminiai gali būti neprieinami visuose regionuose. Kreipkitės į vietinį pagalbos tarnybos atstovą.

Toliau išvardytos medžiagos ir reagentai neįeina į rinkinį, tačiau gali būti reikalingi dažymui atlikti:

1. Rekomenduojamas kontrolinis audinys
2. Mikroskopo objektyviai stiklai, teigiamo krūvio
3. „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ (kat. Nr. 760-1029 / 05266238001)
4. „View DAB Detection Kit“ (kat. Nr. 760-091 / 05266157001)
5. „Endogenous Biotin Blocking Kit“ (kat. Nr. 760-050 / 05266092001)
6. „ultraView Universal DAB Detection Kit“ (kat. Nr. 760-500 / 05269806001)
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 1“ (CC1) (kat. Nr. 950-124 / 05279801001)
12. „ULTRA Cell Conditioning (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“ prietaisas
16. Bendrosios paskirties laboratorinė įranga

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Po pristatymo ir nenaudojant, gaminį reikia laikyti 2–8 °C temperatūroje. Neušaldyti. Norėdami užtikrinti tinkamą reagento tiekimą ir antikūno stabilumą, pakeiskite dozatorių kamštelį po kiekvieno naudojimo ir nedelsdami įdėkite dozatorių į šaldytuvą vertikaliaje padėtyje.

Kiekvienas antikūnų dozatorius turi galiojimo terminą. Tinkamai laikomas reagentas yra stabilus iki etiketėje nurodytos dienos. Nenaudokite reagento, jei jo galiojimo terminas yra pasibaigęs.

MĖGINIO PARUOŠIMAS

Įprastai apdorojami FFPE audiniai yra tinkami naudoti su šiuo pirminiu antikūnu, jei jie naudojami su VENTANA aptikimo rinkiniais ir „BenchMark IHC/ISH“ prietaisais.

Mėginiams apdoroti rekomenduojami šie veiksmai:¹²

Įdėkite mėginį į 10 % neutralų buferinį formaliną. Naudojamas kiekis turi būti 15–20 kartų didesnis už audinio tūrį. Fiksatorius per 24 valandas neprasiskverbs daugiau nei 2–3 mm į kietą audinį arba 5 mm į akytą audinį. 3 mm arba mažesnis audinio pjūvis turi būti fiksuotas ne mažiau nei 4 val. ir ne daugiau nei 8 val. Fiksavimą galima atlikti kambario temperatūroje (15–25 °C).

Po fiksavimo mėginys įdedamas į audinio apdorojimo prietaisą, kad per naktį būtų paruoštas. Trumpai tariant, šį apdorojimą sudaro mėginio dehidratacija alkoholiais, paskui valomaisiais reagentais pašalinami alkoholiai ir galiausiai atliekama infiltracija parafinu.

Mėginiai įterpiami parafine į audinių kasetes ir maždaug 4 µm storio pjūviai supjaustomi, centruojami bei uždedami ant objektyvinių stiklėlių. Objektyviai stiklai turi būti „Superfrost Plus“ arba ekvivalentiški. Audiniai turi būti džiovinami ore, palikus objektyvinius stiklėlius per naktį kambario temperatūroje arba 30 minučių įdėjus į 60 °C temperatūros orkaitę.

Objektyviai stiklai turėtų būti dažomi nedelsiant, nes audinio pjūvių antigeniškumas laikui bėgant gali sumažėti. Norėdami gauti daugiau informacijos, paprašykite Roche atstovo pateikti dokumento „Recommended Slide Storage and Handling“ kopiją.

Rekomenduojama su nežinomais mėginiais kartu tirti teigiamą ir neigiamą kontrolinius audinius.

ISPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Skirta in vitro diagnostikai (IVD).
2. Gali naudoti tik profesionalai.
3. Neviršykite nurodyto tyrimų skaičiaus.
4. „ProClin 300“ tirpalas šiame reagente naudojamas kaip konservantas. Jis klasifikuojamas kaip dirginamoji medžiaga ir patekęs ant odos gali sukelti padidėjusį odos jautrumą. Dirbdami su šiuo reagentu imkitės reikiamų atsargumo priemonių. Venkite reagentų patekimo į akis, ant odos ir gleivinių. Dėvėkite apsauginius drabužius ir pirštines.
5. Šio gaminio sudėtyje yra 1 % arba mažiau galvijų serumo, kuris naudojamas gaminant antikūną.
6. Teigiamo krūvio objektyviai stiklai gali būti jautrūs aplinkos poveikiui, dėl to dažymas gali būti netinkamas. Daugiau informacijos apie tai, kaip naudoti tokio tipo stiklėlius, klauskite „Roche“ atstovo.

7. Žmogaus ar gyvūninės kilmės medžiagos turi būti laikomos biologiškai kenksmingomis ir jas reikia šalinti taikant atitinkamas atsargumo priemones. Medžiagoms paveikus žmogaus organizmą, reikia vadovautis atsakingųjų institucijų pateiktomis sveikatos direktyvomis.^{13,14}
8. Venkite reagento patekimo į akis ir gleivines. Jei reagento pateko į jautrias vietas, plaukite dideliu kiekiu vandens.
9. Saugokite reagentus nuo užteršimo mikrobais, nes dėl jų gali būti gauti klaidingi rezultatai.
10. Prireikus daugiau informacijos apie šio gaminio naudojimą, žr. „BenchMark IHC/ISH“ prietaiso naudotojo vadovą ir visų reikiamų komponentų naudojimo instrukcijas, kurias galite rasti navifyportal.roche.com.
11. Dėl rekomenduojamų šalinimo metodų kreipkitės į vietas ir (arba) valstybės institucijas.
12. Gaminio saugos etiketės daugiausia paremtos ES GHS gairėmis. Saugos duomenų lapai pateikiami profesionaliems naudotojams paprašius.
13. Norėdami pranešti apie pavojingus incidentus, susijusius su šiuo gaminiu, susisieki su vietiniu Roche atstovu ir valstybės narės ar šalies, kurioje gyvena naudotojas, kompetentinga institucija.

Gaminyje gali būti komponentų, pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008 klasifikuojamų taip:

1. lent. Informacija apie pavojus.

Pavojus	Kodas	Frazė
	H317	Gali sukelti alerginę odos reakciją.
	H412	Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.
	P261	Neįkvėpkite rūko ar garų.
	P273	Saugoti, kad nepatektų į aplinką.
	P280	Mūvėti apsaugines pirštines.
	P333 + P313	Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis medicininės konsultacijos / pagalbos.
	P362 + P364	Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant.
	P501	Turinį / pakuotę šalinti patvirtintoje atliekų surinkimo įstaigoje.

Šiame gaminyje yra CAS Nr. 55965-84-9, reakcijos masės, kurią sudaro: 5-chlor-2-metil-2H-izotiazol-3-onas ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas (3 : 1).

DAŽYMO PROCEDŪRA

VENTANA pirminiai antikūnai skirti naudoti „BenchMark IHC/ISH“ prietaise kartu su VENTANA aptikimo rinkiniais ir priedais. Rekomenduojami dažymo protokolai pateikti 2. lent ir 3. lent.

Šis antikūnas pritaikytas konkrečiai inkubacijos trukmei, tačiau naudotojas privalo validuoti rezultatus, gautus naudojant šį reagentą.

Automatizuotos procedūros parametrus galima peržiūrėti, išspausdinti ir taisyti pagal prietaiso naudotojo vadove pateiktą procedūrą. Prireikus išsamesnės informacijos apie imunohistocheminio dažymo procedūras, žr. atitinkamo VENTANA aptikimo rinkinio metodo lapą.

Prireikus daugiau informacijos apie tinkamą šios priemonės naudojimą, žr. įtaisytojo dozatoriaus metodo lapą, kuriam priskirtas dalies Nr. 790-4509 arba 790-4296.

Kiekvieno aptikimo rinkinio rekomenduojamo dažymo protokolo patikrinimas ir patvirtinimas atliekamas naudojant kontrolinius tyrimus ir klinikinių tyrimų rezultatus.

Bet kokie rekomenduojamos dažymo procedūros pakeitimai panaikina šiame metodo lape pateiktas efektyvumo charakteristikas. Naudotojas turi įteisinti bet kokius rekomenduojamos dažymo procedūros pakeitimus.

2. lent. Rekomenduojamas dažymo protokolas „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnui naudojant „ultraView Universal DAB Detection Kit“ su „BenchMark IHC/ISH“ prietaisais.

Procedūros tipas	Metodas	
	XT	ULTRA arba ULTRA PLUS
Deparafinavimas	Pasirinkta	Pasirinkta
Cell Conditioning (antigeno demaskavimas)	CC1, standartas	ULTRA CC1, standartinis
Antikūnas (pirminis)	16 minučių, 37 °C	16 minučių, 36 °C
Kontrastinis dažas (Hematoxylin)	„Hematoxylin II“, 4 min.	„Hematoxylin II“, 4 min.
Apdorojimas po kontrastinio dažymo	„Bluing“, 4 min.	„Bluing“, 4 min.

3. lent. Rekomenduojamas „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno dažymo naudojant „VIEW DAB Detection Kit“ protokolas „BenchMark IHC/ISH“ prietaisuose.

Procedūros tipas	Metodas	
	XT	ULTRA
Deparafinavimas	Pasirinkta	Pasirinkta
Cell Conditioning (antigeno demaskavimas)	CC1, standartas	ULTRA CC1, standartinis
Antikūnas (pirminis)	16 minučių, 37 °C	16 minučių, 36 °C
„A/B Block“ (biotino blokavimas)	Reikalingas	Reikalingas
Kontrastinis dažymas	„Hematoxylin II“, 4 min.	„Hematoxylin II“, 4 min.
Apdorojimas po kontrastinio dažymo	„Bluing“, 4 min.	„Bluing“, 4 min.

KOKYBĖS KONTROLĖS PROCEDŪROS

Teigiama audinio kontrolė

Remiantis optimalia laboratorine praktika, tame pačiame objektyviniame stikelyje, kuriame yra tiriamasis audinys, reikia naudoti teigiamą kontrolinį pjūvį. Jis padeda identifikuoti netinkamo reagentų užlašinimo ant stiklio atvejus. Atitiktis kontrolei geriausia naudoti audinį, kuriam pasireiškia silpna teigiamo nusidažymo reakcija.

Žinomas teigiamas audinio kontrolės reikia naudoti tik siekiant stebėti reagentų ir prietaisų eksploatacines savybes, o ne kaip pagalbinę priemonę tiriamų mėginių diagnozei nustatyti. Jei teigiamame kontroliniame audinyje nepasireiškia teigiamas nusidažymas, tiriamo mėginio rezultatai turi būti laikomi negaliojančiais.

Atliekant kiekvieną dažymo procedūrą būtina atlikti teigiamosaudinio kontrolės tyrimą. CAP rekomenduoja, kad ant paciento objektyviniame stiklyje būtų teigiamas kontrolinis audinys.⁹ Teigiama kontrolinio audinio su „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu pavyzdys yra silpnai teigiama krūties karcinoma. Teigiamos dažomos ląstelės arba audinio komponentai (neoplastinių ląstelių branduolinis dažymas) naudojami siekiant patvirtinti, kad „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas buvo panaudotas ir kad prietaisas veikia tinkamai. Šiame audinyje gali būti tiek teigiamų, tiek neigiamų dažomųjų ląstelių ar audinio komponentų ir jis gali būti naudojamas kaip teigiamas arba neigiamas kontrolinis audinys. Kontrolinis audinys turi būti paimtas neseniai atliktos autopsijos, biopsijos ar chirurginio būdu ir paruoštas arba užfiksuotas kuo greičiau, tokiu pat būdu kaip tiriami pjūviai. Tokie audiniai gali būti naudojami visiems procedūros etapams stebėti nuo audinių paruošimo iki dažymo. Audinių pjūviai, fiksuoti arba apdoroti kitaip negu tiriami mėginiai, užtikrins visų reagentų ir metodo veiksmų, išskyrus fiksavimą ir audinių apdorojimą, kontrolę.

Audinys su silpnu teigiamu nusidažymu yra tinkamesnis už stiprų teigiamą nusidažymą optimaliai kokybės kontrolei ir nedideliame reagento degradacijos lygiui aptikti. Idealiu atveju reikėtų pasirinkti krūties karcinomos audinį, kurio nusidažymas yra silpnas, tačiau teigiamas, kad sistema būtų jautri nedideliui reagentų degradacijai ar IHC metodikos problemoms.

Alternatyviai kaip teigiama kontrolinė medžiaga gali būti naudojamas normalus žmogaus proliferacinis endometriumas. Teigiami dažomi komponentai yra liaukų epitelio ir stromos bei lygiųjų raumenų ląstelių branduolių dažymas. Tačiau endometriumo audinys gali nudažyti pakankamai silpnai, kad būtų galima aptikti nedidelę reagento degradaciją ar IHC metodikos problemas.

Neigiama audinio kontrolė

Naudokite kontrolinį audinį, kuris, kaip žinoma, yra fiksuojamas, apdorojamas ir įterpiamas taip pat, kaip ir paciento mėginys (-iai) su kiekvienu dažymo ciklu „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno specifškumui nustatant PR patikrinti ir specifinio fono dažymo indikacijai užtikrinti (klaidingai teigiamas dažymas). Be to, įvairias skirtingų tipų ląsteles daugelyje audinių pjūvių laboratorijos darbuotojas gali naudoti kaip vidinę neigiamą kontrolinę medžiagą, norėdamas patikrinti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno veikimo charakteristikas. Pavyzdžiui, tas pats audinys (endometriumas), naudojamas kaip teigiamas kontrolinis audinys, gali būti naudojamas kaip neigiamas kontrolinis audinys. Komponentai, kurie nenusidažo (citoplazma, ląstelių membrana), turėtų parodyti, kad ląstelės, kurios neturėtų nusidažyti, specifškai nenusidažo, ir užtikrinti specifinio fono nusidažymo indikaciją. Neigiamas kontrolinis audinys taip pat turi būti naudojamas kaip rezultatų interpretavimo priemonė. Daugelyje audinių pjūvių esanti skirtingų ląstelių tipų įvairovė dažnai leidžia naudoti neigiamas kontrolines audinio sritis, tačiau tai turi patvirtinti naudotojas. Jei specifinis nusidažymas stebimas neigiamo kontrolinio audinio vietose, paciento mėginių rezultatai turi būti laikomi negaliojančiais.

Neigiamas kontrolinis reagentas

Neigiamas kontrolinis reagentas turi būti apdorojamas kiekvienam mėginiui rezultatų interpretavimui. Neigiamas kontrolinis reagentas naudojamas vietoje pirminio antikūno, kad būtų galima įvertinti nespecifinį dažymą ir geriau interpretuoti specifinį dažymą antigeno vietoje. Tai padeda nustatyti kiekvieno objektyviniame stiklyje nespecifinį foninį dažymą. Vietoj pirminio antikūno stiklį nudažykite „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“, išgrynintu neimuniniu triušio IgG, nereaguojančiu su žmogaus mėginiais. Jei naudojamas alternatyvus neigiamas kontrolinis reagentas, atskieskite tokiu pat skiedimo santykiu, kaip pirminio antikūno antiserumą, naudodami „VENTANA Antibody Diluent“. Maždaug 0.2 % fetalinio veršelių serumo išlieka „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūne. „VENTANA Antibody Diluent“, papildytas 0.2 % fetalinio veršelių serumu, taip pat yra tinkamas naudoti kaip nespecifinis neigiamas kontrolinis reagentas. Neigiamo kontrolinio reagento inkubacinis laikotarpis turėtų būti lygus pirminio antikūno inkubacijos laikotarpiui.

Kai nuosekliuose pjūviuose naudojamos kelių antikūnų grupės, neigiamas kontrolinis reagentas ant vieno objektyviniame stiklyje gali būti naudojamas kaip neigiama arba nespecifinė kitų antikūnų surišimo fono kontrolinė medžiaga.

Tyrimo patikra

Prieš pirmą kartą naudojant šį antikūną diagnostinėje procedūroje arba pasikeitus partijos numeriui, antikūno specifškumas turėtų būti patikrintas dažant tam tikrą skaičių teigiamų ir neigiamų audinių, kurių efektyvumo charakteristikos yra žinomos. Žiūrėkite kokybės kontrolės procedūras, anksčiau aprašytas šiame produkto aprašymo skyriuje, ir „College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program“, „Anatomic Pathology Checklist“ arba „CLSI Approved Guideline“ rekomendacijas dėl kokybės kontrolės arba abu dokumentus.^{16,17} Šios kokybės kontrolės procedūros turėtų būti kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai arba kai pasikeičia vieno iš reagentų partijos numeris atitinkamame rinkinyje arba pasikeičia tyrimo parametrai. Kokybės kontrolė negali būti prasmingai atliekama su konkrečiu reagentu atskirai, nes prieš naudojant rinkinį diagnostikai, suderinti reagentai kartu su nustatyto tyrimo protokolu turi būti ištirti atskirai. Tikėtinų rezultatų suvestinėje išvardyti audiniai yra tinkami tyrimui patikrinti.

Visi kokybės kontrolės reikalavimai turi būti atliekami laikantis vietinių, valstijos ir federalinių taisyklių ar akreditacijos reikalavimų.

DAŽYMO INTERPRETAVIMAS / TIKĖTINI REZULTATAI

Vykstant dažymo procedūrai nudažytas reakcijos produktas nusėda antigeno vietose, lokalizuotose „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno. Kvalifikuotas patologas, turintis patirties IHC procedūrose, prieš interpretuodamas rezultatus turi įvertinti teigiamą ir neigiamą kontrolines medžiagas bei kvalifikuoti nudažytą produktą. Progesterono receptorių buklę nusako dažytų naviko ląstelių procentas. Atvejis laikomas PR teigiamu, jei nusidažo 1 % ar daugiau naviko ląstelių branduolių.⁹

Teigiama audinio kontrolė

Pirmiausia reikia iširti teigiamą kontrolinį audinį, nudažytą „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu, kad įsitikintumėte, jog visi reagentai veikia tinkamai. Rudas reakcijos produktas (3,3' diaminobenzidino tetrachloridas, DAB) tikslinių ląstelių branduoliuose rodo teigiamą reaktyvumą. Audinio, kuris gali būti naudojamas kaip teigiama kontrolinė medžiaga, pavyzdys yra žinoma silpnai teigiama krūties karcinoma, pvz., $\geq 1\%$. Auglio ląstelės branduolys turi būti teigiamas. Jei reikia išvengti klaidingai teigiamo interpretavimo, būtina, kad teigiamu būtų laikomas tik branduolio dažymas. Taip pat gali būti naudojamas sveiko žmogus endometriumas. Esant normaliam endometriui, PR dažymas matomas endometriumo liaukų ir stromos branduoliuose. Jei teigiami kontroliniai audiniai nerodo tinkamo teigiamo dažymo, visi tiriamų mėginių rezultatai turi būti laikomi negaliojančiais.

Neigiama audinio kontrolė

Neigiama audinio kontrolė reikėtų iširti po teigiamos audinio kontrolės, kad būtų patikrintas specifinis tikslinio antigeno žymėjimas pirminiu antikūnu. Nesant neigiamo kontrolinio audinio specifinio nusidažymo patvirtinama, kad ląstelėms ar ląstelių komponentams trūksta antikūnų kryžinio reaktyvumo. Krūties karcinoma, naudojama kaip teigiamas kontrolinis audinys, taip pat gali būti naudojama kaip neigiamas kontrolinis audinys. Tam tikrų stromos elementų, kurie žinomi kaip PR neigiami, pavyzdžiui, endotelio ląstelių, branduoliai neturėtų nusidažyti. Jei specifinis nusidažymas stebimas neigiamame kontroliniame audinyje, paciento mėginio rezultatai turi būti laikomi negaliojančiais.

Esant nespecifiniam dažymui, jis bus išsklaidęs. Atsitiktinis silpnas jungiamojo audinio nusidažymas taip pat gali būti matomas audinių pjūviuose, kuriose yra per daug formalino. Dažymo rezultatams interpretuoti turėtų būti naudojamos nepažeistos ląstelės, nes nekrotinės arba išsigimusios ląstelės dažnai nusidažo nespecifiškai.¹⁸

Paciento audinys

Paciento mėginiai, nudažyti naudojant „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūną, turi būti tiriami paskutiniai. Teigiamas nusidažymo intensyvumas turi būti įvertintas atsižvelgiant į bet kokį nespecifinį neigiamo reagento kontrolinio fono nusidažymą. PR gali būti aptiktas tarp kitų neoplazmų, tokių kaip kiaušidžių ir endometriumo vėžys.¹⁹ Aiškinant bet kokį imunohistocheminį rezultatą, taip pat reikia iširti kiekvieno audinio mėginio morfologiją, naudojant hematoksilino ir eozino nudažytus pjūvius. Kvalifikuotas patologas turi interpretuoti paciento morfologinius rezultatus, išvadas ir atitinkamus klininius duomenis. Konkrečios informacijos apie imunoreaktyvumą rasite skyriuose „Santrauka ir paaiškinimas“, „Apribojimai“ ir „Tikėtinų rezultatų santrauka“.

APRIBOJIMAI

Bendrieji apribojimai

1. IHC yra kelių etapų diagnostikos procesas. Ją taikantys specialistai turi būti išmokyti, kaip pasirinkti tinkamus reagentus ir audinius, fiksuoti, apdoroti ir paruošti imunohistochemijos objekcinį stiklį bei interpretuoti dažymo rezultatus.
2. Audinių nusidažymas priklauso nuo audinių tvarkymo ir apdorojimo iki dažymo. Dėl netinkamo fiksavimo, šaldymo, atšildymo, plovimo, džiovimo, kaitinimo, dalijimo ar užteršimo kitais audiniais ar skysčiais gali atsirasti artefaktų, gali įvykti antikūnų sulaikymas arba gali būti gauti klaidingai neigiami rezultatai. Nevienodi rezultatai gali būti gauti dėl skirtingų fiksavimo ir įterpimo metodų naudojimo arba dėl natūralaus audinio nevienodumo.
3. Jeigu kontrastinis dažymas yra per stiprus arba nepakankamas, tai gali pakenkti tinkamam rezultatui aiškinimui.
4. Bet koks teigiamo nusidažymo arba jo nebuvo klinikinė interpretacija turėtų būti vertinama atsižvelgiant į paciento ligos istoriją ir kitus histopatologinius kriterijus. Kliniškai interpretuojant bet kokį dažymą ar jo nebuvimą papildomai reikia remtis morfologiniais tyrimais ir tinkamomis kontrolinėmis medžiagomis bei kitais diagnostiniais tyrimais. Šis antikūnas yra skirtas naudoti antikūnų grupėje. Kvalifikuotas patologas privalo susipažinti su antikūnais, reagentais ir metodais, naudojamais dažomam preparatui paruošti. Dažymas turi būti atliekamas sertifikuotoje ir licencijuotoje laboratorijoje, prižiūrint patologui, kuris atsakingas už nudažytų plokštelių peržiūrą ir teigiamų bei neigiamų kontrolinių medžiagų tinkamumo užtikrinimą.
5. Ventana pateikia antikūnus ir reagentus optimaliai atskiestus ir pritaikytus naudoti pagal pridedamas instrukcijas. Dėl bet koks nuokrypio nuo rekomenduojamos tyrimo procedūros gauti rezultatai gali būti neteisingi. Būtina naudoti ir dokumentuoti tinkamas kontrolines medžiagas. Naudotojai, kurie nesilaiko rekomenduojamų tyrimo procedūrų, privalo prisiimti atsakomybę už paciento rezultatų interpretavimą.
6. Šis produktas nėra skirtas naudoti srauto citometrijoje, efektyvumo charakteristikos nebuvo nustatytos.

7. Anksčiau netirtuose audiniuose gali pasireikšti nenumatytų reakcijų. Nenumatytų reakcijų tikimybė net ir tikrintų audinių grupėse negali būti visai atmetama dėl biologinio kintamumo antigenų ekspresijos neoplazmose arba kituose patologiniuose audiniuose.²⁰ Kreipkitės į savo vietinį pagalbos tarnybos atstovą su dokumentuotomis nenumatytomis reakcijomis.
8. Žmonių, užsikrėtusių hepatito B virusu ir turinčių hepatito B paviršiaus antigeną (HBsAg), audiniai gali nespecifiškai nusidažyti krienų peroksidaze.²¹
9. Naudojant blokavimo veiksmus, normalūs serumai iš to paties gyvūno šaltinio, kaip ir antriniai antiserumai, gali sąlygoti klaidingai neigiamus arba klaidingai teigiamus rezultatus dėl autoantikūnų ar natūralių antikūnų.
10. Klaidingai teigiamus rezultatus galima gauti dėl neimunologinio baltymų arba substrato reakcijos gaminių jungimosi. Jas taip pat gali sukelti pseudoperoksidazės poveikis (eritrocitai), endogeninis peroksidazės aktyvumas (citochromas C) arba endogeninis biotinas (pavyzdžiui, kepenys, smegenys, krūtis, inkstas), tai priklauso nuo naudojamo imuninio dažo tipo.¹⁸
11. Atliekant IHC tyrimą neigiamas rezultatas reiškia, jog antigenų nebuvo aptikta, bet ne tai, kad antigenų nebuvo tirtose ląstelėse ar audinyje.

Specifiniai apribojimai

1. Antikūnas, naudojamas kartu su VENTANA aptikimo rinkiniais ir priedais, aptinka antigeną, kuris išlieka po įprasto fiksavimo formaline, audinių apdorojimo ir padalijimo. Naudotojai, kurie nesilaiko rekomenduojamų tyrimo procedūrų, yra atsakingi už paciento rezultatų interpretavimą ir patvirtinimą.
2. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno neigiamas rezultatas neatmeta PR buvimo. Neigiamos krūties karcinomos reakcijos galimos dėl antigeno ekspresijos dingimo arba žymaus sumažėjimo. Todėl rekomenduojama šį antikūną naudoti antikūnų grupėje su estrogeno receptoriūmi.
3. Teigiamo branduolio dažymas antikūno klonu 1E2 buvo stebimas tonzilės audinyje.²² Tonzilė nėra indikacija naudoti su „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu. Todėl, jei tonzilių audinys naudojamas kaip neigiamas kontrolinis audinys, tonzilių audiniai turėtų būti iširti siekiant įsitikinti, jog pasirinktas neigiamo dažymo atvejis.

Visi tyrimai gali būti registruoti ne visuose prietaisuose. Dėl daugiau informacijos kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

EFEKTYVUMO CHARAKTERISTIKOS

ANALITINIS EFEKTYVUMAS

Buvo atlikti dažymo jautrumo, specifiskumo ir tikslumo tyrimai; rezultatai išvardyti toliau.

Jautrumas ir specifiskumas

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno jautrumas ir specifiskumas buvo nustatytas tiriant įvairius įprastų žmogaus audinių atvejus. Rezultatai pateikti 4. lent ir 5. lent. Visuose audiniuose branduolių dažymas buvo teigiamas, o vienu kiaušidžių atveju dažymas buvo nenumatytai neigiamas. Buvo pastebėtas teigiamas skydliaukės audinio dažymas, bet tai buvo nustatyta anksčiau.²³ Teigiamo branduolio dažymas antikūno klonu 1E2 buvo stebimas tonzilės audinyje.²²

4. lent. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno jautrumas / specifiskumas buvo nustatytas tiriant FFPE sveikus audinius.

Audinys	Teigiamų atvejų skaičius / bendras atvejų skaičius	Audinys	Teigiamų atvejų skaičius / bendras atvejų skaičius
Didžiosios smegenys	0/5	Stemplė	0/3
Smegenėlės	0/3	Skrandis	0/3
Antinksčiai	0/3	Plonoji žarna	0/3
Kiaušidė	2/3	Gaubtinė žarna	0/3
Kasa	3/3	Kepenys	0/3
Priešskydinė liauka	0/4	Seilių liauka	0/3
Hipofizė	3/3	Inkstas	0/3
Sėklidė	0/3	Prostata	1/3

Audinys	Teigiamų atvejų skaičius / bendras atvejų skaičius	Audinys	Teigiamų atvejų skaičius / bendras atvejų skaičius
Skydliaukė	0/5	Šlapimo pūslė	0/5
Krūtis ^a	4/4	Endometriumas	1/3
Blūžnis	1/3	Gimdos kaklelis	8/8
Tonzilė	1/3	Skeletinis raumuo	0/5
Užkrūčio liauka	0/3	Oda	0/3
Kaulų čiulpai	0/3	Nervas	0/3
Plautis	0/3	Mezotelis	0/3
Širdis	0/3		

^a Audinys apima fibrozinį nebalinį audinį.

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno imunoreaktyvumas buvo nustatytas ištyrus įvairius neoplastinių žmogaus audinių atvejus. Atvejai buvo laikomi PR teigiamais, jei nusidažė bent ≥ 1 % invazinių naviko ląstelių branduolių.

5. lent. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno jautrumas / specifiskumas buvo nustatytas ištyrus įvairius FFPE neoplastinius audinius.

Patologija	Teigiamų atvejų skaičius / bendras atvejų skaičius
Glioblastoma (smegenų)	0/1
Meningioma (smegenų)	0/1
Ependimoma (smegenų)	0/1
Oligodendroglioma (smegenėlių)	0/1
Serozinė adenokarcinoma (kiaušidžių)	1/1
Mucininė adenokarcinoma (kiaušidžių)	0/1
Neuroendokrininė neoplazma (kasos)	1/1
Adenokarcinoma (kasos)	0/1
Seminoma (sėklidės)	0/1
Embrioninė karcinoma (sėklidės)	0/1
Medulinė karcinoma (skydliaukės)	1/1
Papilinė karcinoma (skydliaukės)	0/1
Duktalinė karcinoma in situ (krūties)	1/1
Invazinė duktalinė karcinoma (krūties)	0/1
B ląstelių limfoma, neapibrėžiama (blūžnies)	0/1
Smulkių ląstelių karcinoma (plaučių)	0/1
Plokščiųjų ląstelių karcinoma (plaučių)	0/1
Adenokarcinoma (plaučių)	0/1
Plokščiųjų ląstelių karcinoma (stemplės)	0/1
Adenokarcinoma (stemplės)	0/1
Mucininė adenokarcinoma (skrandžio)	0/1
Adenokarcinoma (žarnos)	0/1
Adenokarcinoma (gaubtinės žarnos)	0/1

Patologija	Teigiamų atvejų skaičius / bendras atvejų skaičius
Piktybinė mišri mezenchiminė neoplazma (gaubtinės žarnos)	0/1
Adenokarcinoma (tiesiosios žarnos)	0/1
Piktybinė mišri mezenchiminė neoplazma (tiesiosios žarnos)	0/1
Melanoma (tiesiosios žarnos)	0/1
Hepatoceliulinė karcinoma (kepenų)	0/1
Hepatoblastoma (kepenų)	0/1
Šviesiųjų ląstelių karcinoma (inksto)	0/1
Adenokarcinoma (prostato)	1/1
Urotelio karcinoma (šlaplės ties prostata)	1/1
Lejomioma (gimdos)	1/1
Adenokarcinoma (gimdos)	1/2
Šviesiųjų ląstelių karcinoma (gimdos)	0/1
Plokščiųjų ląstelių karcinoma (gimdos kaklelio)	1/1
Embrioninė raištelio karcinoma (skersinio raumens)	0/1
Plokščiųjų ląstelių karcinoma (skersinio raumens)	0/1
Bazinių ląstelių karcinoma (odos)	0/1
Neurofibroma (tarpuplaučio)	1/1
Neuroblastoma (retroperitoneumo)	1/1
Mezotelioma (pilvaplėvės)	0/1
Hodžkino limfoma (limfmazgio)	0/1
Limfoma, neapibrėžiama (limfmazgio)	0/2
B ląstelių limfoma, neapibrėžiama (limfmazgio)	0/1
Urotelio karcinoma (šlapimo pūslės)	0/1

Jautrumas priklauso nuo antigeno išsaugojimo. Bet koks netinkamas audinių apdorojimas fiksavimo, dalijimo, įterpimo ar laikymo metu, keičiantis antigeniškumą, susilpnina PR aptikimą naudojant „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūną ir gali sąlygoti klaidingai neigiamus rezultatus.

BenchMark XT ir BenchMark ULTRA prietaisų tikslumas

Testuojant pakartojamumą buvo nudažyti šeši atskiri audinių atvejai. Iš šių audinių dviejuose buvo didelė PR ekspresija, dviejuose silpna PR ekspresija, o dviejuose PR buvo neigiama, laikant, kad nusidažius < 1 %, naviko ląstelių ekspresija neigiama, 1–10 % silpna, o > 10 % didelė.

Atliekant pakartojamumo serijoje tyrimą kiekvieno atvejo 9 objekciniai stikliai buvo nudažyti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu, o vienas kiekvieno atvejo objekcinis stiklis buvo nudažytas „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ antikūnu „BenchMark XT“ prietaisu. Ta pati tyrimo konfigūracija buvo pritaikyta „BenchMark ULTRA“ prietaise. Tiriant „BenchMark XT“ ir „BenchMark ULTRA“ prietaisais „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnų pakartojamumas serijoje šešiais atvejais buvo 100 % suderinamas su visais teigiamais audiniais.

Atliekant tarpinio tikslumo tyrimus skirtingomis dienomis, keturi kiekvieno atvejo objekciniai stikliai buvo nudažyti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu, o vienas kiekvieno atvejo objekcinis stiklis buvo nudažytas „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ antikūnu penkiomis atskiromis ne iš eilės atliekamomis serijomis 20 dienų laikotarpiu naudojant tą patį „BenchMark XT“ prietaisą. Ta pati tyrimo konfigūracija buvo pritaikyta „BenchMark ULTRA“ prietaise. Tiriant „BenchMark XT“ ir „BenchMark ULTRA“ prietaisais „CONFIRM anti-PR (1E2)“ tarpinis antikūno tikslumas skirtingomis dienomis šešiais atvejais buvo 100 % suderinamas su visais teigiamais audiniais.

Testuojant „BenchMark XT“ tarpinį tikslumą tarp prietaisų, 4 objekciniai stikliai iš šešių atvejų buvo nudažyti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu trimis atskirais „BenchMark XT“ prietaisais. Po vieną kiekvieno atvejo objekcinį stiklį buvo nudažyta „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ antikūnu. Tiriant „BenchMark XT“ prietaisais „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnų tarpinis tikslumas tarp prietaisų buvo 100 % suderinamas visais šešiais atvejais.

Testuojant „BenchMark ULTRA“ tarpinį tikslumą tarp prietaisų, 4 objekciniai stikliai iš šešių atvejų buvo nudažyti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu trimis atskirais „BenchMark ULTRA“ prietaisais. Po vieną kiekvieno atvejo objekcinį stiklį buvo nudažyta „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ antikūnu. Tiriant trimis „BenchMark ULTRA“ prietaisais „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnų tarpinis tikslumas tarp prietaisų buvo 100 % suderinamas visais šešiais atvejais.

Visi atkuriamumo bandymai atitiko priimtumo kriterijus.

BenchMark ULTRA PLUS prietaiso tikslumas

Testuojant tikslumą buvo nudažyti devyni atskiri audinių atvejai. Iš devynių audinių trijuose buvo didelė PR ekspresija, trijuose buvo silpna PR ekspresija, o trijuose PR buvo neigiama, laikant, kad nusidažius < 1 % naviko ląstelių ekspresija yra neigiama, 1–10 % – silpna, o > 10 % – didelė.

Atliekant pakartojamumo serijoje tyrimą kiekvieno atvejo penki objekciniai stikliai buvo nudažyti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu, o vienas kiekvieno atvejo objekcinis stiklis buvo nudažytas „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ antikūnu „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu. Tiriant „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno pakartojamumas serijoje buvo 100 % suderinamas „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ nudažyti objekciniai stikliai buvo priimtini signalo ir fono atžvilgiu.

Atliekant tarpinio tikslumo tyrimus skirtingomis dienomis, du kiekvieno atvejo objekciniai stikliai buvo nudažyti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu, o vienas kiekvieno atvejo objekcinis stiklis buvo nudažytas „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ antikūnu penkiais atskirais ne iš eilės atliekamomis serijomis 20 dienų laikotarpiu naudojant tą patį „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisą. Tiriant „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno tarpinis tikslumas skirtingomis dienomis buvo 97.8 %. „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ nudažyti objekciniai stikliai buvo priimtini signalo ir fono atžvilgiu.

Tiriant „BenchMark ULTRA PLUS“ tarpinį tikslumą tarp prietaisų, du objekciniai stikliai iš kiekvieno atvejo buvo nudažyti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu trimis atskirais „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisais. Po vieną kiekvieno atvejo objekcinį stiklį buvo nudažyta „CONFIRM Negative Control Rabbit Ig“ antikūnu. Tiriant trimis „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisais „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnų tarpinis tikslumas tarp prietaisų buvo 98.1 %.

Tarplaboratorinis atkuriamumas

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno tarplaboratorinio atkuriamumo tyrimas buvo atliktas naudojant 14 krūties vėžio objektnių stiklelių (8 teigiami, 2 silpnai teigiami, 4 neigiami) testuojant 3 „BenchMark XT“ ir 3 „BenchMark ULTRA“ prietaisais, naudojant „VIEW DAB“ aptikimą ir „ultraView Universal DAB Detection Kit“ aptikimą kiekvieną jų 5 ne iš eilės einančiomis dienomis mažiausiai 20 dienų laikotarpiu 3 išorinėse laboratorijose. Mėginių nusidažiusių naviko ląstelių procentinę dalį atsitiktinės atrankos būdu vertino 6 patologai (po 2 patologus kiekvienoje vietoje). Atvejis buvo laikomas PR teigiamu, jei nusidažė mažiausiai 1 % invazinių naviko ląstelių branduolių.⁹

Atliekant „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnų tikslumo tarp vietų klinikinį vertinimą, teigiamos atitikties vidurkis (APA) ir neigiamos atitikties vidurkis (ANA) santykis buvo atitinkamai 99.7 % ir 99.1 %, naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą su „VIEW“ aptikimu; atitinkamai 98.6 % ir 95.4 % naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą su „ultraView Universal DAB Detection Kit“; atitinkamai 99.4 % ir 98.4 % naudojant „BenchMark XT“ prietaisą su „VIEW“ aptikimu bei atitinkamai 97.4 % ir 91.3 % naudojant „BenchMark XT“ prietaisą su „ultraView Universal DAB Detection Kit“.

Atliekant „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno tikslumo skirtingomis dienomis klinikinį vertinimą, APA ir ANA rodikliai buvo atitinkamai 99.7 % ir 99.1 %, naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą su „VIEW“ aptikimu; atitinkamai 98.5 % ir 95.5 % naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą su „ultraView Universal DAB Detection Kit“; atitinkamai 99.3 % ir 98.3 % naudojant „BenchMark XT“ prietaisą su „VIEW“ aptikimu bei atitinkamai 97.0 % ir 90.8 % naudojant „BenchMark XT“ prietaisą su „ultraView Universal DAB Detection Kit“.

Atliekant „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno skirtingų vertintojų tikslumo klinikinį vertinimą, APA ir ANA rodikliai buvo atitinkamai 99.7 % ir 99.1 %, naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą su „VIEW“ aptikimu; atitinkamai 98.6 % ir 95.6 % naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą su „ultraView Universal DAB Detection Kit“; atitinkamai

99.3 % ir 98.3 % naudojant „BenchMark XT“ prietaisą su „VIEW“ aptikimu bei atitinkamai 98.6 % ir 95.1 % naudojant „BenchMark XT“ prietaisą su „ultraView Universal DAB Detection Kit“.

Atliekant tikslumo naudojant skirtingas platformas tarp „BenchMark ULTRA“ ir „BenchMark XT“ prietaisų vertinimą, APA ir ANA rodikliai buvo atitinkamai 99.5 % ir 98.7 % naudojant „VIEW“ aptikimą ir atitinkamai 98.0 % ir 93.9 % naudojant „ultraView Universal DAB Detection Kit“.

Atliekant tikslumo naudojant tą pačią platformą vertinimą, APA ir ANA rodikliai buvo atitinkamai 98.7 % ir 96.4 % naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą ir atitinkamai 97.4 % ir 92.6 % naudojant „BenchMark XT“ prietaisą.

VIEW DAB Detection Kit ir ultraView Universal DAB Detection Kit palyginimas naudojant CONFIRM anti-PR (1E2) antikūną.

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas buvo naudojamas aptikimo rinkiniui palyginti tarp dviejų prietaisų („BenchMark XT“ ir „BenchMark ULTRA“ prietaisų), naudojant „VIEW DAB Detection Kit“ ir „ultraView Universal DAB Detection Kit“. Testuojant buvo panaudoti šimtas devyniasdešimt devyni audinių atvejai. Iš visų atvejų maždaug pusė yra teigiami ir pusė neigiami, kaip funkcija nuo nudažytų naviko ląstelių procento. Nudažytus objektnius stiklius vertino patologai, kurie nustatė nudažytų auglio ląstelių procentinę dalį. Atvejis buvo laikomas PR teigiamu, jei nusidažė mažiausiai 1 % naviko ląstelių branduolių.

Morfologijos ir fono priimtumo rodiklis buvo 100 % ir aptikimo rinkiniams, ir prietaisams, išskyrus „ultraView Universal DAB Detection Kit“ naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą, kurio fono priimtumo rodiklis buvo 99.5 %. Tiesioginiai teigiamų ir neigiamų klinikinį vertinimą palyginimai tarp aptikimo rinkinių kiekvienai platformai yra pateikti 6. lent. „BenchMark ULTRA“ prietaisui ir 7. lent. „BenchMark XT“ prietaisui.

6. lent. „ultraView Universal DAB Detection Kit“ ir „VIEW DAB Detection Kit“ palyginimo klinikinis įvertinimas naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą.

ultraView Universal DAB Detection Kit	VIEW DAB Detection Kit		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas	94	11	105
Neigiamas	2	86	88
Iš viso	96	97	193
	n/N	%(95 % PI)	
Teigiama atitiktis procentais	94/96	97.9 (92.7–99.4)	
Neigiama atitiktis procentais	86/97	88.7 (80.8–93.5)	
Bendra atitiktis procentais	180/193	93.3 (88.8–96.0)	

7. lent. „ultraView Universal DAB Detection Kit“ ir „VIEW DAB Detection Kit“ palyginimo klinikinis įvertinimas naudojant „BenchMark XT“ prietaisą.

ultraView Universal DAB Detection Kit	VIEW DAB Detection Kit		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas	91	14	105
Neigiamas	2	86	88
Iš viso	93	100	193
	n/N	%(95 % PI)	
Teigiama atitiktis procentais	91/93	97.8 (92.5–99.4)	
Neigiama atitiktis procentais	86/100	86.0 (77.9–91.5)	
Bendra atitiktis procentais	177/193	91.7 (87.0–94.8)	

Abiejų prietaisų aptikimo rinkinių klinikinio įvertinimo atitikimas buvo didesnis nei 90 %, t. y. 93.3 % (n = 193) ir 91.7 % (n = 193) atitinkamai „BenchMark ULTRA“ ir „BenchMark XT“ prietaisams. „ultraView Universal DAB Detection Kit“ lyginant su „VIEW DAB Detection Kit“ dažymo rezultatų atitikimo santykis buvo 90.2 % (n = 193) ir 85.5 % (n = 193).

BenchMark ULTRA ir BenchMark ULTRA PLUS prietaisų palyginimas

Buvo atliktas tyrimas, kurio tikslas buvo palyginti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno dažymo rezultatus „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaise ir „BenchMark ULTRA“ prietaise. Šimtas trisdešimt keturi (134) krūties karcinomos audinių atvejai (61 PR teigiamas, 61 PR neigiamas ir 12 PR ribinių teigiamų), atitinkantys tyrimo klinikinį intervalą. Nudažytus objektinius stiklius vertino patologai, kurie nustatė nudažytų auglio ląstelių procentinę dalį. Atvejis buvo laikomas PR teigiamu, jei nusidažė mažiausiai $\geq 1\%$ invazinių naviko ląstelių branduolių.⁹ Tiesioginiai teigiamų ir neigiamų PR būsenų palyginimai tarp „BenchMark ULTRA“ prietaiso ir „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaiso yra pateikti 8. lent.

8. lent. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas naudojant „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisą ir „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą (išskyrus ribinius teigiamus atvejus).

BenchMark ULTRA PLUS prietaisas	BenchMark ULTRA prietaisas		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas	79	2	81
Neigiamas	6	23	29
Iš viso	85	25	110
	n/N	% (95 % PI)	
Teigiama atitiktis procentais	79/85	92.9 (85.4–96.7)	
Neigiama atitiktis procentais	23/25	92.0 (75.0–97.8)	
Bendra atitiktis procentais	102/110	92.7 (86.3–96.3)	

Visų tyrimo nudažytų objektinių stiklių morfologijos priimtumo rodiklis buvo 100.0 % (95 % PI 97.2–100.0 %) naudojant „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisą. Fono priimtumo rodiklis buvo 100.0 % (95 % PI 97.2–100.0 %) naudojant „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisą.

KLINIKINIS VEIKSMINGUMAS

CONFIRM anti-PR (1E2) antikūno palyginimas su FLEX anti-PR (PgR 636).

Buvo atliktas atsitiktinės atrankos kelių vietų, kelių vertintojų tyrimas, kurio tikslas buvo palyginti „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno dažymo rezultatus „BenchMark ULTRA“ prietaisu ir „BenchMark XT“ prietaisu su „Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR (PgR 636))“ rezultatais, gautais naudojant „Dako Autostainer Plus“. Naudojant „BenchMark IHC/ISH“ prietaisus endogeninis biotinas buvo užblokuotas naudojant „VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit“. Antikūnas buvo aptiktas naudojant „VIEW DAB Detection Kit“. „Dako“ platformoje antikūnas buvo aptiktas naudojant „EnVision Flex“, „High pH“. Maždaug 120 neigiamų ir 216 teigiamų krūties vėžio atvejų, atspindinčių klinikinį tyrimo diapazoną, buvo atsitiktinai priskirti trims tyrimo vietoms, kad kiekviena vieta gautų vienodą atvejų skaičių ir kiekviena vieta gautų atvejų, atspindinčių kiekvieną klinikinio atvejo vertinimo kategoriją. Visose vietose paskirti atvejai buvo nudažyti su „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą, su „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu naudojant „BenchMark XT“ prietaisą ir su „FLEX anti-PR (PgR 636)“ antikūnu naudojant „Dako Autostainer Plus“. Nudažytus objektinius stiklius vertino patologai, kurie nustatė nudažytų auglio ląstelių procentinę dalį. Atvejis buvo laikomas PR teigiamu, jei nusidažė mažiausiai $\geq 1\%$ invazinių naviko ląstelių branduolių.⁹

9. lent. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą lyginant su „FLEX anti-PR (PgR 636)“ antikūnu naudojant „Dako Autostainer Plus“.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikūnas	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas:	200	7	207
Neigiamas:	9	104	113
Iš viso:	209	111	320
	n/N	% (95 % PI)	
Teigiama atitiktis procentais	200/209	95.7 (92.0–97.7)	

CONFIRM anti-PR (1E2) antikūnas	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Neigiama atitiktis procentais	104/111	93.7 (87.6–96.9)	
Bendra atitiktis procentais	304/320	95.0 (92.0–96.9)	

10. lent. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas naudojant „BenchMark XT“ prietaisą lyginant su „FLEX anti-PR (PgR 636)“ antikūnu naudojant „Dako Autostainer Plus“.

CONFIRM anti-PR (1E2) antikūnas	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas:	186	9	195
Neigiamas:	18	100	118
Iš viso:	204	109	313
	n/N	% (95 % PI)	
Teigiama atitiktis procentais	186/204	91.2 (86.5–94.3)	
Neigiama atitiktis procentais	100/109	91.7 (85.0–95.6)	
Bendra atitiktis procentais	286/313	91.4 (87.7–94.0)	

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūno dažymą naudojant „BenchMark ULTRA“ ir „BenchMark XT“ prietaisus lyginant su „FLEX anti-PR (PgR 636)“ antikūno dažymu naudojant „Dako Autostainer Plus“, teigiamas, neigiamas ir bendras atitikimo rodiklis (bendrai visose vietose) buvo didesnis nei 90 %.

11. lent. „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnas naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą lyginant su „CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnu naudojant „BenchMark XT“ prietaisą.

BenchMark ULTRA prietaisas	BenchMark XT prietaisas		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas:	184	12	196
Neigiamas:	6	105	111
Iš viso:	190	117	307
	n/N	% (95 % PI)	
Teigiama atitiktis procentais	184/190	96.8 (93.3–98.5)	
Neigiama atitiktis procentais	105/117	89.7 (82.9–94.0)	
Bendra atitiktis procentais	289/307	94.4 (90.9–96.3)	

„CONFIRM anti-PR (1E2)“ antikūnų dažymas „BenchMark ULTRA“ prietaisu, lyginant su „BenchMark XT“ prietaisu, teigiamas, neigiamas ir bendras atitikimo santykis buvo didesnis nei 89 %.

Visų šiame tyrimo nudažytų objektinių stiklių morfologijos priimtumo rodiklis buvo 99.7 % (95 % PI 98.3–99.9 %) naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą ir 96.1 % (95 % PI 93.5–97.7 %) naudojant „BenchMark XT“ prietaisą. Fono priimtumo rodiklis buvo 99.4 % (95 % PI 97.9–99.8 %) naudojant „BenchMark ULTRA“ prietaisą ir 95.2 % (95 % PI 92.4–97.0 %) naudojant „BenchMark XT“ prietaisą.

TRIKČIŲ DIAGNOSTIKA

1. Jei teigiama kontrolinė medžiaga nusidažo silpniau, nei tikėtasi, kartu patikrinkite kitas teigiamas kontrolines medžiagas, kad nustatytumėte, ar taip yra dėl pirminio antikūno ar vieno iš bendrųjų antrinių reagentų.
2. Jeigu teigiama kontrolinė medžiaga neigiama, patikrinkite, ar objekcinio stiklio brūkšninio kodo etiketė yra tinkama. Jei objekcinis stiklis tinkamai pažymėtas, kartu patikrinkite kitas teigiamas kontrolines medžiagas, kad nustatytumėte, ar taip yra dėl pirminio antikūno ar vieno iš bendrųjų antrinių reagentų. Audiniai galėjo būti netinkamai surinkti, fiksuoti arba deparafinuoti. Tinkamai atlikite paėmimo, laikymo ir fiksavimo procedūras.

- Perteklinio foninio nusidažymo atveju galimas aukštas endogeninio biotino lygis. Turi būti įtraukiamas biotino blokavimas veiksmas.
- Jei nebuvo pašalintas visas parafinas, pakartokite deparafinavimo procedūrą.
- Jei specifinis antikūnų dažymas yra per intensyvus, pakartokite ciklą sutrumpinę pirminio antikūno inkubacijos laiką 4 minutėmis, kad būtų pasiektas norimas dažymo intensyvumas.
- Jei audinio pjūviai nusiplauna nuo plokštelių, patikrinkite, ar plokštelių krūvis yra teigiamas.
- Informacijos apie taisomuosius veiksmus žr. skyriuje „Nuosekli procedūra“, prietaiso naudotojo vadove arba kreipkitės į vietinį pagalbos tarnybos atstovą.

ŠALTINIAI

- 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.
- Grimm SL, Hartig SM, Edwards DP. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. J Mol Biol. 2016;428(19):3831-3849.
- Tanos T, Rojo L, Echeverria P, et al. ER and PR signaling nodes during mammary gland development. Breast Cancer Res. 2012;14(4):210.
- 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.
- Swaby RF, Sharma CG, Jordan VC. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. Rev Endocr Metab Disord. 2007;8(3):229-239.
- Horwitz KB, McGuire WL. Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. Science. 1975;189(4204):726-727.
- 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.
- 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.
- 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.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Occupational Safety and Health Standard: 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 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- Roche PC, His 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.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.
- Press MF, Greene GL. Localization of progesterone receptor with monoclonal antibodies to the human progesterone receptor. Endocrinology. 1988;122(3):1165-1175.
- 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.

- Guadagno E, De Rosa G, Nappi O. A National Quality Assurance Program for Breast Immunohistochemistry: An Italian Perspective. Pathologica. 2018;110(2):83-91.
- Money SR, Muss W, Thelmo WL, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterone receptors in human thyroid. Surgery. 1989;106(6):975-8.

PASTABA. Šiame dokumente dešimtainės trupmenos visada skiriamos tašku. Jis atskiria sveikąją dešimtainio skaičiaus dalį nuo trupmeninės dalies. Tūkstančių skirtukai nenaudojami.

Saugos ir veiksmingumo santrauką galima rasti čia:

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

Simboliai

Be ISO 15223-1 standarte pateiktų simbolių ir ženklų (USA: daugiau informacijos žr. elabdoc.roche.com/symbols), „Ventana“ taip pat naudoja toliau nurodytus simbolius ir ženklus.

GTIN

Pasaulinės prekybos identifikacinis numeris

„Rx only“

USA: Dėmesio. Pagal federalinius įstatymus šį prietaisą galima parduoti tik gydytojui arba jo užsakymu.

PERŽIŪROS ISTORIJA

Perž.	Atnaujinimai
H	8 lentelės nuorodos taisymas. Atnaujinta pagal dabartinį šabloną.

INTELEKTINĖ NUOSAVYBĖ

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM ir ULTRAVIEW yra Roche prekių ženklai. Visi kiti prekių pavadinimai ir prekių ženklai yra atitinkamų jų savininkų nuosavybė.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTINĖ INFORMACIJA



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

