
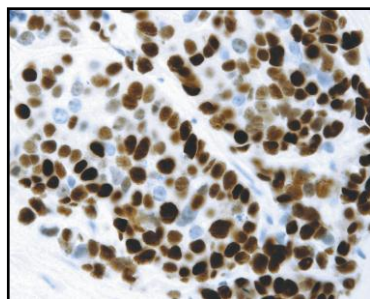


CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF	790-2223	 50
	0527799001	
	790-4296	 250
	05278392001	

IVD

URČENÉ POUŽITÍ



Obrázek 1. CONFIRM anti Progesterone Receptor (PR) (1E2) barvení ductálního karcinomu prsu.

normálních a neoplastických buněk. CONFIRM anti-PR (1E2) je určena jako pomoc pro určení, prognózu a předpověď výsledků terapie karcinomu prsu.

Tento výrobek musí být interpretován kvalifikovaným patologem ve spojení s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a vhodnými kontrolami.

Pouze na lékařský předpis.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

CONFIRM anti-PR (1E2) je králičí monoklonální protilátka, která dokáže rozpoznat A a B formu lidského progesteronového receptoru. Tento imunogen byl vyvinut ze syntetického peptidu, který byl rozpoznán jako oblast s potenciálně vysokou antigenitou společnou pro progesteronový receptor formy A a B. Peptid je syntetizovaný a kovalentně vázaný na antigen KLH (keyhole limpet hemocyanin), aby byla zvýšena antigenita. Pomocí western blotu bylo prokázáno, že CONFIRM anti-PR (1E2) reaguje s proteiny 60 kD, 87 kD a 110 kD z buněk T47D. Velikost proteinů je v souladu s předpokládanou molekulární vahou progesteronových receptorů formy A, B a C.^{1,2}

Králičí monoklonální protilátka prokazatelně zlepšila senzitivitu a specificitu v imunohistochemii.³ Jejich spolehlivost a obarvací schopnost se dobře osvědčily v případech karcinomu prsu.^{4,5} V jedné studii bylo použito protilátky CONFIRM anti-PR (1E2) k určení hodnot semikvantitativního hormonálního receptoru pomocí modifikovaného H skóre založeného na procentech a intenzitě zbarvení. Následující kvantitativní měření PR receptorů pomocí RT-PCR v 80 případech dokazuje lineární shodu při porovnání s CONFIRM anti-PR (1E2).⁶

Výsledky zbarvení s CONFIRM anti-PR (1E2) v normálních tkáních, neoplastických tkáních a 173 případech karcinomu prsu byly posouzeny společností Ventana. V 90 normálních testovaných tkáních byla exprese konzistentní s publikovanou literaturou a PR se tedy nacházel v jádru. Exprese byla zároveň omezena na reprodukční tkáně (prso, hrdlo a děloha), pankreatické ostrůvky, přední lalok a štítnou žlázu.⁷⁻¹²

Rakovina prsu je nejběžnější karcinom vyskytující se u žen a představuje druhou nejčastější příčinu smrti spojenou s rakovinou.¹¹ Včasná detekce a vhodná léčba mohou výrazně zvýšit šance na přežití.^{13,14} Malé vzorky tkání mohou být snadno použity při běžné imunohistochemii, čímž je tato technika společně s protilátkou, jež dokáže rozpoznat antigeny důležité pro interpretaci karcinomu, stává efektivním nástrojem pro patologii při diagnóze a prognóze nemoci. Důležitým markerem pro rakovinu prsu je dnes

progesteronový receptor (PR), vzhledem k jeho roli při určování funkčnosti estrogenových receptorů umístěných v rakovinných buňkách v prsu.

Přítomnost estrogenového receptoru (ER) nicméně ještě nezaručuje odezvu na endokrinní léčbu. U poloviny pacientů s primárním nádorem s pozitivním ER nebyla zaznamenána žádná reakce.^{15,16} Genetická exprese v nádorových buňkách je často nepřesná, což vede k různé expresi proteinu. Existuje návrh, že mutantní ER, které již neváží estrogen a které již nevykonávají signální transdukcii, mohou být příčinou nulové odezvy na endokrinní léčbu. Jedním způsobem, jak zjistit funkčnost ER nacházejících se v karcinomu prsu, je určit, zda jsou proteiny regulované ER exprimovány. Takovýmto proteinem je progesteronový receptor, který je již mnoho let využíván k monitorování funkčnosti ER.¹⁷

Národní institut zdraví (National Institutes of Health, NIH) v roce 1979 doporučil určovat stav ER pro všechny primární karcinomy prsu, aby mohla být lépe stanovena vhodná léčba. V roce 1985 NIH a Americká onkologická společnost (American Cancer Society) nezávisle na sobě publikovaly zprávy, které podporovaly určování hormonálního receptoru pro léčbu rakoviny prsu. V roce 1996 Americká společnost klinické onkologie (American Society of Clinical Oncology) na základě výsledků panelu nádorových markerů (Tumor Marker Panel) doporučila určování stavu ER a PR pro všechny primární lézy a metastázy, pokud by výsledky mohly ovlivnit plánování léčby. Dále také doporučila použití ER a PR výsledků pro identifikaci pacientů, u kterých je nejvyšší pravděpodobnost pozitivních výsledků endokrinní adjuvantní léčby a léčby recidivující či metastatické nemoci. Panel pro nádorové markery dále poukázal na to, že ER a PR status může hrát roli při prognóze, nicméně zároveň upozornil, že tyto statusy je zapotřebí vyhodnocovat pouze ve spojení s dalšími klinickými kritérii, jelikož pouze ER nebo PR status je relativně slabý ukazatel dlouhodobé recidivy a úmrtnosti rakoviny prsu.¹⁸ V roce 2010, Americká společnost klinické onkologie společně s Americkou společností patologů (College of American Pathologists, CAP) vydaly *Guideline for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer* a doporučily určovat stav ER a PR for všechny invazivní rakoviny prsu a recidivní rakoviny prsu.¹⁹

Pro vyhodnocení stavu PR je používáno několik metod. Léčby schválené Správou potravin a léčiv (FDA) zahrnují test cytosolického receptoru (SBA/DCC) analyzovaného pomocí Scatchardovy metody, histochemickou analýzu tkání pomocí fluorescenční mikroskopie a imunologický test enzymů (EIA) pomocí konjugátu Anti-PR monoklonální protilátky.²⁰

Interpretace výsledků jakéhokoliv systému PR detekce musí vzít v úvahu heterogenitu prsních nádorů. Nádory často obsahují benigní epiteliální buňky z normální hyperplastických lalůčků či kanálků, které jsou také PR pozitivní. Testy využívající homogenizované tkáně, např. DCC nebo EIA, tak nemusí přesně vypovídat o stavu PR v maligních tkáních.¹⁸ Histologické preparáty tkáně mají tu výhodu, že morfolgie tkáně zůstává nedotčena, což napomáhá interpretaci pozitivního PR ve vzorku. Histologické testy by měly být interpretovány odborníkem v morfologii a patologii rakoviny prsu a výsledky by měly být použity ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními daty.

DODÁVANÉ ČINIDLO

Katalogové číslo 790-2223	CONFIRM anti-PR (1E2) obsahuje množství činidla postačující na 50 testů. Jeden 5 mL dávkovač CONFIRM anti-PR (1E2) obsahuje přibližně 5 µg králičí monoklonální protilátky nasměrované proti lidskému PR antigenu.
Katalogové číslo 790-4296	CONFIRM anti-PR (1E2) obsahuje činidla postačující na 250 testů. Jeden 25 mL dávkovač CONFIRM anti-PR (1E2) obsahuje přibližně 25 µg králičí monoklonální protilátky nasměrované proti lidskému PR antigenu.

Protilátka je naředěna v 0,05 M Tris-HCL s obsahem 2 % proteinového nosiče a 0,1 % ProClin 300, konzervační látky. Obsahuje stopu (~0,2 %) fetálního telecího séra vyrobeného v U.S. ze zásobního roztoku.

Celková proteinová koncentrace činidla je asi 10 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je asi 1 µg/mL. Pro tento produkt není známa žádná nespecifická protilátková reaktivita.

CONFIRM anti-PR (1E2) je králičí monoklonální protilátka vyráběná jako supernatant buněčné kultury.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ SE NEDODÁVÁ

Barvicí činidla, např. VENTANA detekční soupravy (tj. *ultraView* Universal DAB Detection Kit) a pomocné materiály, včetně kontrolních sklíček pro negativní a pozitivní tkáň, nejsou součástí dodávky.

SKLADOVÁNÍ

Uchovávejte při teplotě 2 až 8 °C. Chraňte před mrazem.

Aby byla zajištěna správná funkce činidla a stabilita protilátky, je nezbytné dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve vzpřímené poloze do chladničky.

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Při řádném skladování je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po vypršení data expirace.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami VENTANA a barvicím automatem VENTANA BenchMark XT nebo VENTANA BenchMark ULTRA jsou vhodné tkáně, zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Pro zpracování vzorků je doporučen následující postup:²¹

1. Vložte vzorek do 10 % neutrálního pufovaného formalínu. Použité množství by mělo odpovídat 15-20 násobku tkáně. Fixativa neproniknou více než 2 až 3 mm do pevné tkáně nebo 5 mm do pórovité tkáně v čase 24 hodin. 3mm nebo menší řez tkáně by měl být fixován minimálně 4 hodiny a maximálně 8 hodin. Fixace může být provedena při pokojové teplotě (15–25 °C).
2. Vzorek je po fixaci přes noc připraven v nástroji pro zpracování tkáně. Tento proces se ve zkratce skládá z dehydratace vzorku pomocí alkoholu, odstranění činidel, aby byl odstraněn alkohol, a nakonec infiltrace parafínem.
3. Vzorky jsou zality parafínem v tkáňových kazetách a poté jsou vyříznuty přibližně 4 µm sekce, které jsou vycentrovány a vloženy na podložní sklíčko. Mikroskopická sklíčka musí být Superfrost Plus nebo ekvivalentní. Tkáň musí být usušena na vzduchu ponecháním sklíčka v pokojové teplotě přes noc nebo vložením do sušičky na 60 °C po dobu 30 minut.
4. V zájmu zachování antigenosti nařezaných tkáňových řezů se musí řezu tkání barvit okamžitě.

Doporučuje se zpracovávat souběžně s neznámými vzorky též pozitivní a negativní kontrolní vzorky tkáně.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. Tento produkt obsahuje 1 % nebo méně bovinního séra, které se používá k výrobě této protilátky.
2. Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicemi. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
3. Zamezte mikrobiologické kontaminaci činidel.
4. ProClin 300 se v tomto roztoku používá jako konzervační látka. Je klasifikován jako dráždivý a po styku s pokožkou může způsobovat alergickou reakci. Při manipulaci dodržujte příslušná bezpečnostní opatření. Zabraňte kontaktu činidel s očima, pokožkou a sliznicemi. Používejte vhodný ochranný oděv a rukavice.
5. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny ve vnitrostátních a místních předpisech.
6. Další informace naleznete v bezpečnostních listech.

PRINCIPY A POSTUPY

CONFIRM anti-PR (1E2) se váže na PR v parafínu zalitých řezech tkání. Specifická protilátka může být lokalizována buď formulací biotinem konjugované sekundární protilátky, která dokáže rozpoznat králičí imunoglobuliny, a následným přidáním konjugátu streptavidinu s křenovou peroxidázou (HRP) (*VIEW* DAB Detection Kit) nebo konjugátem sekundární HRP protilátky (*ultraView* Universal DAB Detection Kit). Specifický komplex protilátky a enzymu je vizualizován reakcí se srážejícím se enzymem.

Klinické případy by měly být hodnoceny v kontextu provedených příslušných kontrol. Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) doporučuje zahrnout kontrolu pozitivní tkáně fixované a zpracované stejným způsobem jako vzorek pacienta (např. slabě pozitivní karcinom prsu nebo dělohy). Kromě zbarvení protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2), druhé sklíčko by mělo být zbarveno VENTANA CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Aby mohl být test považován za platný, pozitivní kontrolní tkáň musí vykazat zbarvení jádra nádorových buněk, děložních žláz a stromatu. Tyto komponenty musí být negativní, pokud

jsou obarveny CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Dále je doporučeno zahrnout sklíčko s negativní kontrolní tkání (např. PR negativní karcinom prsu) do každé dávky vzorků zpracovaných na barvicím automatu VENTANA. Tato negativní kontrolní tkáň musí být obarvena CONFIRM anti-PR (1E2), aby bylo zaručeno, že zesílení antigenu a další předběžné postupy nezpůsobily falešné pozitivní obarvení.

Postup barvení

Primární protilátky VENTANA byly vyvinuty za účelem použití v barvicích automatech VENTANA ve spojení s detekčními soupravami VENTANA a příslušenstvím. Doporučené barvicí protokoly pro barvicí automaty jsou uvedeny v Tabulka 1 a v Tabulka 2. Parametry automatických procedur lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v Návodu k obsluze. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě VENTANA.

Navržené kontrolní testy a výsledky klinických studií dokazují ověření a validaci doporučených barvicích postupů pro jednotlivé detekční soupravy.

Jakákoliv změna doporučeného barvicího postupu ruší charakteristiky účinnosti popsané v příbalovém letáku. Uživatel je povinen ověřit jakékoliv změny doporučeného barvicího postupu.

Tabulka 1. Doporučený barvicí protokol pro CONFIRM anti-PR (1E2) za použití *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístroji BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Přístroj/Metoda	
	BenchMark XT Přístroj	BenchMark ULTRA Přístroj
Odstraňování parafínu	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Cell Conditioning 1, Standardní	Cell Conditioning 1, Standardní
Enzym (proteáza)	Není vyžadováno	Není vyžadováno
Protilátka (primární)	16 minut, 37 °C	16 minut, 36 °C
A/B Blok (blokování biotinu)	N/A	N/A
Kontrastní barvivo (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 minuty	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty	Bluing, 4 minuty

Tabulka 2. Doporučený barvicí protokol pro CONFIRM anti-PR (1E2) za použití *VIEW* DAB Detection Kit na přístroji BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Přístroj/Metoda	
	Přístroj BenchMark XT	Přístroj BenchMark ULTRA
Odstraňování parafínu	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Cell Conditioning 1, Standardní	Cell Conditioning 1, Standardní
Enzym (proteáza)	Není vyžadováno	Není vyžadováno
Protilátka (primární)	16 minut, 37 °C	16 minut, 36 °C
A/B Blok (blokování biotinu)	Požadováno	Požadováno
Kontrastní barvivo (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 minuty	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty	Bluing, 4 minuty

Postup barvení na barvicích automatech VENTANA je následující. Další podrobné pokyny a další vlastnosti protokolu naleznete v Návodu k obsluze.

BenchMark Automated IHC/ISH Držáký sklíček

1. Opatřete sklíčka štítkem s čárovým kódem odpovídajícím protokolu protilátky, která má být zpracována.
2. Založte primární protilátku a dávkovače příslušné detekční soupravy a potřebná přídatná činidla do zásobníku pro činidla a umístěte zásobník do barvicího automatu.
3. Zkontrolujte nádoby na tekutiny a odpad.
4. Vložte sklíčka do barvicího automatu.
5. Spustíte barvicí cyklus.
6. Po dokončení cyklu vyjměte sklíčka z barvicího automatu.
7. K odstranění krycího roztoku promyjte sklíčka v roztoku mírného saponátu na nádobí nebo alkoholu.
8. Dehydrujte, vyčistěte a zakryjte permanentním montovacím médiem.

POSTUPY KONTROLY KVALITY

Tkáň pro pozitivní kontrolu

S každým provedeným barvicím postupem je třeba provést pozitivní kontrolu tkáně. Dle CAP doporučení by pozitivní kontrolní tkáň měla být položena na sklíčko pacienta.¹⁹ Jako příklad pro použití tkáně pro pozitivní kontrolu pomocí CONFIRM anti-PR (1E2) může sloužit slabě pozitivní karcinom prsu. Součástí barvicích buněk nebo tkání pro pozitivní kontrolu (obarvení jádra nádorových buněk) se používají k potvrzení, že protilátka CONFIRM anti-PR (1E2) byla přidána a přístroj pracuje správně. Tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené buňky nebo části tkáně a slouží jako tkáň pro pozitivní i negativní kontrolu. Kontrolní vzorky musí být čerstvé vzorky z pitvy, biopsie nebo operace připravené nebo fixované co nejdříve a zalité stejným způsobem jako testované řezy. Takové tkáně mohou monitorovat všechny kroky postupu, od přípravy tkáně až po barvení. Použití tkáňového řezu fixovaného nebo zpracovaného jiným způsobem než testovaný vzorek zajistí kontrolu pro všechna činidla a kroky metody kromě fixace a zpracování tkáně.

Tkáň se slabým pozitivním zbarvením je pro optimální kontrolu kvality a pro rozpoznání nižší úrovně degradace činidel vhodnější než silně pozitivní zbarvení. V ideálním případě by měla být vybrána tkáň karcinomu prsu, o které je známo, že má slabě pozitivní zbarvení, aby byla zajištěna senzitivita systému na malé množství degradace činidel nebo problémy s IHC metodologií.

Popřípadě může být pro pozitivní kontrolu použita normální lidská bující děložní sliznice. Součástí pozitivního obarvení je zbarvení jader glandulárních epitelů, stromálních buněk a buněk hladkého svalu. Endometriální tkáň nemusí být ovšem zbarvena dost slabě na to, aby rozpoznala nízké množství degradace činidel nebo problémy s IHC metodologií.

Známé pozitivní kontroly tkání by měly být používány pouze ke sledování správné funkce zpracovaných tkání a testových činidel, nikoliv jako pomůcka k formulaci specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud se u pozitivních kontrolních tkání neprojeví pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovacích vzorků za neplatné.

Tkáň pro negativní kontrolu

Použijte kontrolní tkáň, která byla v jednotlivých barvicích cyklech fixována, zpracována a zalita stejným způsobem jako vzorky pacienta pro ověření specifity protilátky CONFIRM anti-PR (1E2) při prokázání PR a pro zajištění indikace zbarvení pozadí (falešně negativní obarvení). Také rozmanitost různých druhů buněk ve většině tkáňových řezů může být použita laborantem jako vnitřní negativní kontrola pro ověření účinnosti CONFIRM anti-PR (1E2). Například pro negativní kontrolu lze použít stejnou tkáň (endometrium), která se používá pro pozitivní kontrolu. Části, které se nebarví (cytoplasma, buněčná membrána), by měly prokázat nepřítomnost specifického zbarvení u buněk, u kterých není zbarvení očekáváno, a zajistit indikaci zbarvení pozadí. Negativní kontrolní tkáň by měla být také využita jako pomoc při interpretaci výsledků. Rozmanitost různých typů buněk, které se nacházejí ve většině řezů tkání, často nabízí vnitřní oblasti pro negativní kontrolu, ale to by měl ověřit uživatel. Pokud se projeví specifické zbarvení v částech tkáně pro negativní kontrolu, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné.

Činidlo pro negativní kontrolu

K usnadnění interpretace výsledků je třeba provést pro každý vzorek cyklus s činidlem pro negativní kontrolu. Negativní kontrola činidla je použita místo primární protilátky, aby se dalo vyhodnotit nespecifické zbarvení a aby mohlo být lépe interpretováno specifické zbarvení na místě antigenu. Tímto je zajištěna indikace nespecifického obarvení pozadí pro každé sklíčko. Místo primární protilátky zbarvěte sklíčko protilátkou CONFIRM Negative Control Rabbit Ig, purifikovanou neimunní králíčí IgG nereagující s lidskými

vzorky. Je-li pro negativní kontrolu použito jiné činidlo, nařeďte ho ve stejném poměru jako antisérum primární protilátky roztokem VENTANA Antibody Diluent. Přibližně 0,2 % fetální telecího séra je zachováno v protilátce CONFIRM anti-PR (1E2). Přidání dalších 0,2 % fetálního telecího séra do roztoku VENTANA Antibody Diluent je vhodné pro nespecifickou negativní kontrolu činidla. Inkubační doba činidla pro negativní kontrolu by měla odpovídat primární protilátce.

Pokud se panely řady protilátek používají se sériovými řezy, může činidlo pro negativní kontrolu na jednom podložním skle sloužit jako negativní kontrola nebo kontrola nespecifické vazby pozadí pro jiné protilátky.

Ověření testu

Před použitím této protilátky v diagnostickém procesu nebo pokud došlo ke změně čísla šarže, by měla být ověřena specifita protilátky obarvením několik negativních a pozitivních tkání se známou účinností. Více viz postupy kontroly kvality uvedené výše v tomto oddílu příbalové informace a doporučení pro kontroly kvality v akreditačním programu College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist a schválené pokyny CLSI pro oba dokumenty.^{22,23} Tyto postupy kontroly kvality by se měly opakovat u každé nové šarže protilátky a vždy, když dojde ke změně čísla šarže jednoho z činidel ve spárované soupravě nebo když se změní parametry testu. Kontrolu kvality nelze smysluplně provést na individuálním izolovaném činidle, jelikož spárovaná činidla, společně s definovaným testovacím protokolem, musí být testována současně před použitím soupravy pro účely diagnózy. K ověření testu jsou vhodné tkáně uvedené v části Souhrn očekávaných výsledků.

Všechny požadavky na kontrolu kvality musí odpovídat místním, státním nebo federálním předpisům či akreditačním požadavkům.

INTERPRETACE ZABARVENÍ

Při automatickém procesu imunohistochemického barvení VENTANA vzniká zbarvený reakční produkt, který se vysráží v místech s antigenem, nalezených pomocí CONFIRM anti-PR (1E2). Dříve než budou výsledky interpretovány, musí kvalifikovaný patolog se zkušenostmi s imunohistochemickými postupy vyhodnotit pozitivní a negativní kontroly a kvalitu barevných produktů. Stav progesteronového receptoru je určen procentem obarvených nádorových buněk. Případ je považován za PR pozitivní, pokud je zbarvení jader rovno nebo vyšší než 1 % nádorových buněk.

Tkáň pro pozitivní kontrolu

Nejprve je nutné provést test tkáně pro pozitivní kontrolu zbarvené CONFIRM anti-PR (1E2) a ověřit tak správnost funkce všech reagentů. Přítomnost hnědého (3,3' diaminobenzidintetrahydrochlorid, DAB) reakčního produktu uvnitř jader cílových buněk indikuje pozitivní reaktivitu. Příkladem tkáně pro pozitivní kontrolu je slabě pozitivní karcinom prsu, např. $\geq 1\%$. Jádra nádorových buněk by měla být pozitivní, zatímco stroma zůstává PR negativní. Je nezbytně nutné považovat za pozitivní pouze obarvení jader, aby se předešlo falešné pozitivní interpretaci. Normální lidské endometrium může být také použito. PR obarvení pro normální endometrium je viditelné v jádrech endometrických žláz a stromatu. Pokud se u pozitivních kontrolních tkání neprojeví pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Tkáň pro negativní kontrolu

Tkáň pro negativní kontrolu je nutno testovat po tkání pro pozitivní kontrolu, abychom ověřili specifitu značení cílového antigenu primární protilátkou. Nepřítomnost specifického zbarvení v tkáni pro negativní kontrolu potvrzuje nepřítomnost zkřížené reaktivity s buňkami nebo částmi buněk. Pro negativní kontrolu lze použít tkáň karcinomu prsu, která se používá pro pozitivní kontrolu. Stromální prvky by neměly vykazovat obarvení jader. Pokud se projeví specifické zbarvení ve tkáni pro negativní kontrolu, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné.

Pokud se vyskytuje nespecifické zbarvení, je většinou difúzní. Sporadické slabé zbarvení pojivové tkáně lze také pozorovat v řezech z tkání nadměrně fixovaných formalinem. K interpretaci výsledků používejte pouze intaktní buňky, jelikož nekrotické nebo degenerované buňky mohou často barvit nespecificky.²⁴

Tkáň pacienta

Vzorky pacienta zbarvené pomocí CONFIRM anti-PR (1E2) se vyšetřují jako poslední. Intenzitu pozitivního zbarvení je nutno posuzovat v kontextu jakéhokoli nespecifického zbarvení pozadí činidla pro negativní kontrolu. PR může být také detekován mezi jinými novotvory, jako jsou rakovina vaječniku a endometrium.¹⁰ Ke správné interpretaci každého imunohistochemického výsledku by měla být testována rovněž morfologie každého vzorku tkáně s využitím řezů barvených hematoxylinem a eozinem. Morfologický nálezný a příslušné klinické údaje pacienta musí interpretovat kvalifikovaný patolog.

Specifické informace týkající se imunoreaktivity naleznete v částech Souhrn a vysvětlení a Souhrn očekávaných výsledků.

OMEZENÍ

Všeobecná omezení

1. Imunohistochemie (IHC) je diagnostický proces obsahující více kroků, který vyžaduje specializované vyškolení ve výběru vhodných činidel a tkání, fixaci a zpracování, přípravě imunohistochemického podložního skla a interpretaci výsledků zbarvení.
2. Zbarvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a na jejím zpracování před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, rozmrazení, umývání, sušení, zahřívání, řezání nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může vést ke vzniku artefaktů, zachycení protilátky nebo falešně negativním výsledkům. Následkem odchylek při fixaci a metodách zalévání či následkem stávajících nerovnoměrností ve tkáni může docházet k inkonzistentním výsledkům.
3. Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
4. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být vyhodnocena v kontextu klinického projevu, morfologie a jiných histopatologických kritérií. Klinická interpretace jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být doplněna morfologickými studii a řádnými kontrolami a také dalšími diagnostickými testy. Tato protilátka je určena pro užití v panelu protilátek. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, aby se seznámil s protilátkami, činidly a metodami používanými k barvení preparátů. Barvení se musí provádět v certifikované laboratoři s příslušným oprávněním a pod dohledem patologa zodpovědného za hodnocení barvených podložních skel a zaručení adekvátnosti pozitivních a negativních kontrol.
5. Ventana dodává protilátky a činidla pro použití optimálně naředěné, pokud jsou dodrženy pokyny, které jsou součástí produktu. Jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů může způsobit neočekávané výsledky. Je nutno provést a zdokumentovat příslušné kontroly. Uživatelé, kteří nedodrží doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
6. Tento výrobek není určen pro průtokovou cytometrii, charakteristiky účinnosti zatím nejsou známy.
7. Činidla mohou vykazovat neočekávané reakce v dřívě netestovaných tkáních. V důsledku biologické variability exprese antigenu v neoplazmě nebo jiných patologických tkáních nelze zcela vyloučit možnost neočekávaných reakcí i v testovaných skupinách tkání.²⁵ Se zdokumentovanými neočekávanými reakcemi se obraťte na místní zastoupení společnosti Ventana.
8. Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B, které obsahují povrchový antigen (HBsAg) hepatitidy B, mohou s křenuvou peroxidázou vykazovat nespecifické zbarvení.²⁶
9. Normální séra ze stejného živočišného zdroje jako sekundární antiséra použitá v blokovacích krocích mohou v důsledku přítomnosti autoprotilátek nebo přirozených protilátek způsobovat falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky.
10. Falešně negativní výsledky se mohou vyskytovat v důsledku neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce se substrátem. Mohou být také způsobeny aktivitou pseudoperoxidázy (erytrocyty) a aktivitou endogenní peroxidázy (cytochrom C) nebo endogenním biotinem (příklad: játra, mozek, prso, ledvina) v závislosti na typu použitého imunohistochemického barviva.²⁴
11. Jako u každého imunohistochemického testu, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli, že antigen není v testovaných buňkách nebo tkáni přítomen.

Specifická omezení

1. Protilátka ve spojení se detekčními soupravami a příslušenstvím VENTANA detekuje antigen, který přežívá v běžným způsobem zpracované a nařezané tkáně, fixované ve formalínu. Uživatelé, kteří nedodrží doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
2. Negativní výsledek protilátky CONFIRM anti-PR (1E2) nevylučuje přítomnost PR. Negativní reakce v karcinomu prsu může být způsobena ztrátou nebo výrazným snížením exprese antigenu. Proto je vhodné tuto protilátku používat v panelu protilátek, včetně estrogenového receptoru.
3. Tato protilátka není určena k použití při ručním barvení.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

1. Imunoreaktivita protilátky CONFIRM anti-PR (1E2) byla stanovena studii, jež ukázala příslušné barvení antigenu PR. 90 zkoumaných normálních tkání zahrnovalo: nadledvinka, kostní dřeň, prs, malý mozek, velký mozek, děložní hrdlo,

tlusté střevo, endometrium, jícen, srdce, ledvina, játra, plíce, mezotel, vaječnický, slinivka břišní, štítná žláza, periferní nerv, lalok, prostata, slinná žláza, kosterní sval, kůže, tenké střevo, slezina, žaludek, varlata, štítná žláza, mandle a brzlík. Obarvení bylo jaderné, pouze jeden případ nečekaného negativního zbarvení vaječnicku. Pozitivní obarvení jader zahrnovalo lobulární a dukální prsní buňky, glandulární epitel a fibromuskulární buňky děložního hrdla, glandulární epitel, stromální tkáň, endometriální buňky hladkého svalstva a sekreční buňky adenohipofýzy všech tří případů lalokových buněk. Bylo pozorováno pozitivní zbarvení buněk štítné žlázy, které bylo zaznamenáno již dříve.¹²

Ventana dále testovala celkem 54 neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu pomocí CONFIRM anti-PR (1E2), s využitím stejných protokolů a předběžných postupů jako pro testování normální buněk. Zkoumané tkáně zahrnovaly neoplastické tkáně z následujících tkání: plíce, prostata, tlusté střevo, lymfom, žaludek, děložní hrdlo, vaječnick, mozek, slinivka břišní, varlata, štítná žláza, rektum, slezina, jícen, játra a ledviny. Pro děložní hrdlo vykázal pozitivní zbarvení pouze jeden adenokarcinom. Pro vaječnick vykázal pozitivní zbarvení jádra pouze jeden papilární adenokarcinom. Pro štítnou žlázu vykázal pozitivní zbarvení jádra pouze jeden medulární a jeden papilární adenokarcinom. Jeden karcinom ostrůvkových buněk u slinivky byl pozitivní. Jeden maligní mesenchymom u rekta byl pozitivní. Jeden adenokarcinom u prostaty byl pozitivní. Leiomyom i adenokarcinom u dělohy byly pozitivní na PR.

Senzitivita závisí na zachování antigenu. Nesprávné zacházení s tkání během fixace, řezání, zalévání nebo skladování, které změní antigenost, oslabí detekci PR protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) a může tak způsobit falešně negativní výsledky.

2. Šest jednotlivých případů tkání bylo obarveno jako součást testu reprodukovatelnosti. Z těchto šesti tkání měly dvě vysokou expresi PR, dvě nízkou expresi PR a dvě byly PR negativní na základě výřezu $\leq 1\%$ nádorových buněk pro negativní, 1-10 % pro nízkou a $>10\%$ pro vysokou expresi.

Při testu reprodukovatelnosti v rámci jednoho dne (uvnitř cyklu) bylo 9 sklíčků z každého případu obarveno protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) a jedno sklíčko z každého případu bylo obarveno protilátkou CONFIRM Negative Control Rabbit Ig na přístroji BenchMark XT. Stejný testovací postup byl proveden také na přístroji BenchMark ULTRA.

V testu reprodukovatelnosti ze dne na den (mezi cykly) byla čtyři sklíčka z každého případu obarvena protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) a jedno sklíčko z každého případu bylo obarveno protilátkou CONFIRM Negative Control Rabbit Ig v pěti oddělených nenavazujících cyklech v průběhu 20 dnů na stejném přístroji BenchMark XT. Stejný testovací postup byl proveden také na přístroji BenchMark ULTRA.

V testu opakovatelnosti uvnitř platformy na přístroji BenchMark XT byla 4 sklíčka z šesti případů obarvena protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) napříč třemi různými přístroji BenchMark XT. Jedno sklíčko z každého případu bylo obarveno protilátkou CONFIRM Negative Control Rabbit Ig.

V testu opakovatelnosti uvnitř platformy na přístroji BenchMark ULTRA byla 4 sklíčka z šesti případů obarvena protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) napříč třemi různými přístroji BenchMark ULTRA. Jedno sklíčko z každého případu bylo obarveno protilátkou CONFIRM Negative Control Rabbit Ig.

Všechny testy reprodukovatelnosti splnily kritéria akceptovatelnosti.

3. Porovnání CONFIRM anti-PR (1E2) a FLEX anti-PR (PgR 636).
Porovnání barvicí výkonnosti antilátky CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark ULTRA a na přístroji BenchMark XT a antilátky Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636 Ready-To-Use (FLEX anti-PR (PgR 636)) na Dako Autostainer Plus bylo provedeno v randomizované studii provedené na více místech s více patologií. Na přístroji BenchMark byl endogenní biotin blokován pomocí VENTANA Endogenous Biotin Blocking Kit. Protilátka byla detekována pomocí M/VIEW DAB Detection Kit. Na platformě Dako byla protilátka detekována pomocí EnVision Flex, detekce vysokého pH. Přibližně 120 negativních a 216 pozitivních případů rakoviny prsu, představující klinický rozsah testu, bylo náhodně přiřazeno na tři studijní pracoviště tak, aby každé pracoviště obdrželo stejný počet případů a každé pracoviště obdrželo případy představující každou klinickou testovanou kategorii. Každému pracovišti byly přiděleny případy s protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark ULTRA, protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark XT, a s FLEX anti-PR (PgR 636) na Dako Autostainer Plus. Obarvená sklíčka byla vyhodnocena patologií, kteří určili procento obarvených nádorových buněk. Případ je považován

za PR pozitivní, pokud je jsou jádra zbarvena u alespoň ≥ 1 % invazivních nádorových buněk.¹⁹

Tabulka 3. CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark ULTRA v porovnání s FLEX anti-PR (PgR 636) na the Dako Autostainer Plus.

CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní:	200	7	207
Negativní:	9	104	113
Celkem:	209	111	320
	n/N	% (95 % CI)	
Pozitivní procentuální shoda	200/209	95,7 (92,0-97,7)	
Negativní procentuální shoda	104/111	93,7 (87,6-96,9)	
Celková procentuální shoda	304/320	95,0 (92,0-96,9)	

Tabulka 4. CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark XT v porovnání s FLEX anti-PR (PgR 636) na Dako Autostainer Plus.

CONFIRM anti-PR (1E2)	FLEX anti-PR (PgR 636)		
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní:	186	9	195
Negativní:	18	100	118
Celkem:	204	109	313
	n/N	% (95 % CI)	
Pozitivní procentuální shoda	186/204	91,2 (86,5-94,3)	
Negativní procentuální shoda	100/109	91,7 (85,0-95,6)	
Celková procentuální shoda	286/313	91,4 (87,7-94,0)	

Tabulka 5. CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark ULTRA v porovnání s CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark XT

BenchMark ULTRA Přístroj	BenchMark XT Přístroj		
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní:	184	12	196
Negativní:	6	105	111
Celkem:	190	117	307
	n/N	% (95 % CI)	
Pozitivní procentuální shoda	184/190	96,8 (93,3-98,5)	
Negativní procentuální shoda	105/117	89,7 (82,9-94,0)	
Celková procentuální shoda	289/307	94,4 (90,9-96,3)	

Pro obarvení protilátkou CONFIRM anti-PR (1E2) na přístroji BenchMark ULTRA a přístroji BenchMark XT v porovnání s protilátkou FLEX anti-PR (PgR 636) na Dako Autostainer Plus byla pozitivní, negativní a celková shoda (spočteno pro všechna pracoviště) vyšší než 90 %. Pro obarvení protilátkou CONFIRM anti-PR na přístroji BenchMark ULTRA v porovnání s přístrojem BenchMark XT byla negativní, pozitivní a celková shoda vyšší než 89 %.

Hodnoty morfologické přijatelnosti pro všechna sklička této studie byly 99,7 % (95 % C.I. 98,3 %-99,9 %) na přístroji BenchMark ULTRA a 96,1 % (95 % C.I. 93,5 %-97,7 %) na přístroji BenchMark XT. Hodnoty přijatelnosti pozadí byly 99,4 % (95 % C.I. 97,9 %-99,8 %) na přístroji BenchMark ULTRA a 95,2 % (95 % C.I. 92,4 %-97,0 %) na přístroji BenchMark XT.

4. Porovnání *VIEW* DAB Detection Kit a *ultraView* Universal DAB Detection Kit pomocí CONFIRM anti-PR (1E2).

Protilátka CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody byla použita pro porovnání detekce mezi dvěma nástroji (nástroj BenchMark XT a BenchMark ULTRA) za použití detekčních souprav *VIEW* DAB Detection Kit a *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Při testování bylo použito sto devadesát devět případů tkání. Z těchto případů zhruba polovina byla pozitivní a polovina negativní podle procenta obarvených nádorových buněk. Obarvená sklička byla vyhodnocena patologem, kteří určili procento obarvených nádorových buněk. Příklad je považován za PR pozitivní, pokud je jsou jádra zbarvena u alespoň 1 % nádorových buněk.

Hodnoty přijatelnosti morfologie a pozadí byly 100 % pro obě detekční soupravy kromě soupravy *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístroji BenchMark ULTRA, pro kterou byla hodnota přijatelnosti pozadí 99,5. Přímé srovnání pozitivních a negativních klinických testů mezi detekčními soupravami pro jednotlivé platformy je uvedeno v tabulce 6 pro přístroj BenchMark ULTRA a v tabulce 7 pro přístroj BenchMark XT.

Tabulka 6. Klinické posouzení pro detekční soupravu *ultraView* Universal DAB Detection Kit vs. *VIEW* DAB Detection Kit s přístrojem BenchMark ULTRA.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW</i> DAB Detection Kit		
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní	94	11	105
Negativní	2	86	88
Celkem:	96	97	193
	n/N	% (95 % CI)	
Pozitivní procentuální shoda	94/96	97,9 (92,7-99,4)	
Negativní procentuální shoda	86/97	88,7 (80,8-93,5)	
Celková procentuální shoda	180/193	93,3 (88,8-96,0)	

Tabulka 7. Klinické posouzení pro detekční soupravu *ultraView* Universal DAB Detection Kit vs. *VIEW* DAB Detection Kit s přístrojem BenchMark XT.

<i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit	<i>VIEW</i> DAB Detection Kit		
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní	91	14	105
Negativní	2	86	88
Celkem:	93	100	193
	n/N	% (95 % CI)	
Pozitivní procentuální shoda	91/93	97,8 (92,5-99,4)	
Negativní procentuální shoda	86/100	86,0 (77,9-91,5)	
Celková procentuální shoda	177/193	91,7 (87,0-94,8)	

Shoda klinického posouzení mezi detekčními soupravami obou přístrojů byla více než 90 % při 93,3 % (n=193) a 91,7 % (n=193) při přístroji BenchMark ULTRA a BenchMark XT v tomto pořadí. Detekční souprava *ultraView* Universal DAB Detection Kit měla v porovnání se soupravou *VIEW* DAB Detection Kit hodnoty shody barvení 90,2 % (n=193) a 85,5 % (n=193).

ŘEŠENÍ PROBLÉMU

1. Jestliže pozitivní kontrola vykazuje slabší zbarvení, než se očekává, měly by být současně zkontrolovány i další cykly s pozitivní kontrolou, aby bylo možné stanovit, zda je uvedené způsobeno primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů.
2. Pokud je pozitivní kontrola negativní, je nutno ji zkontrolovat, aby bylo zajištěno, že má sklíčko správný štítek s čárovým kódem. Jestliže má sklíčko správný štítek, měly by být současně zkontrolovány i další cykly s pozitivní kontrolou, aby bylo možné stanovit, zda je uvedené způsobeno primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů. Odběr, fixace nebo odstraňování parafínů z tkání mohlo být provedeno nesprávným způsobem. Odběr tkáně, její fixace a skladování musí probíhat správným způsobem.
3. Vyskytne-li se přílišné zbarvení pozadí, pravděpodobně jsou přítomny vysoké úrovně endogenního biotinu. Je třeba zahrnout krok blokování biotinu.
4. Jestliže se nepodařilo odstranit všechny parafín, je potřeba postup pro odstranění parafínu zopakovat.
5. Je-li zbarvení specifickou protilátkou příliš intenzivní, opakujte cyklus s primární protilátkou s kratší inkubační dobou vždy o 4 minuty až do doby dosažení požadované intenzity barvení.
6. Jestliže dochází ke smývání řezů tkání ze sklíčka, zkontrolujte, zda jsou podložní sklíčka nabitá kladným nábojem.
7. Nápravné činnosti jsou uvedeny v kapitole Jednotlivé kroky postupu v Návodu k obsluze barvicího automatu. Můžete se rovněž obrátit na místního zástupce podpory zákazníků.

REFERENCE

1. Bevitt DJ, Milton ID, Piggot N, Henry L, Carter MJ, Toms GL, Lennard TW, Westley B, Angus B, Home CH. New Monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *J Pathol.* 1997;183(2):228-232.
2. Dickson RB, Lippman ME. Genes, oncogenes, and hormones: advances in cellular and molecular biology of breast cancer. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1992: 285-286.
3. Rocha R, Nunes C, et al. Rabbit monoclonal antibodies show higher sensitivity than mouse monoclonals for estrogen and progesterone receptor evaluation in breast cancer by immunohistochemistry. *Pathol Res Pract.* 2008;204(9):655-62.
4. Cano G, Milanezi F, et al. Estimation of hormone receptor status in fine-needle aspirates and paraffin-embedded sections from breast cancer using the novel rabbit monoclonal antibodies SP1 and SP2. *Diagn Cytopathol.* 2003;29(4):207-11.
5. Rhodes A, Sarson J, et al. The reliability of rabbit monoclonal antibodies in the immunohistochemical assessment of estrogen receptors, progesterone receptors, and HER2 in human breast carcinomas. *Am J Clin Pathol.* 2010;134(4):621-32.
6. O'Connor, SM, Beriwal S, et al. Concordance between semiquantitative immunohistochemical assay and oncotype DX RT-PCR assay for estrogen and progesterone receptors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18(3):268-72.
7. Wei LL, Miner R. Evidence for the existence of a third progesterone receptor protein in human breast cancer cell line T47D. *Cancer Res.* 1994;54(2):340-3.
8. Doglioni C, Gambacorta M, Zamboni G, Coggi G, Viale G. Immunocytochemical localization of progesterone receptors in endocrine cells of the human pancreas. *Am J Pathol.* 1990;137(5):999-1005.
9. Greene GL, Press MF. Immunohistochemical evaluation of estrogen receptor and progesterone receptor in breast cancer. In: Ceriani RL, editor. *Immunological Approaches to the Diagnosis and Therapy of Breast Cancer.* New York: Plenum Press, 1987: 119-135.
10. Press MF, Greene GL. Localization of progesterone receptor with monoclonal antibodies to the human progesterone receptor. *Endocrinology.* 1988;122(3):1165-1175.
11. Winborn WB, Sheridan PJ, McGill HC Jr. Localization of progesterone receptors in the islets of Langerhans. *Pancreas.* 1987;2(3):289-94.
12. Money SR, Muss W, Thelmo WL, Boeckl O, Pimpl W, Kaindl H, Sungler P, Kirwin J, Waclawicek H, Jaffe BM, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterone receptors in human thyroid. *Surgery.* 1989;106(6):975-8.
13. Roche PC. Immunohistochemical stains for breast cancer. *Mayo Clin Proc.* 1994;69(1):57-58.
14. PDQ. Treatment. Health Professionals. Breast Cancer. Downloaded from http://icisun.nci.nih...t_cancer_Physician.html on 4/10/1997.

15. Horwitz KB. How do breast cancers become hormone resistant? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1994;49(4-6):295-302.
16. Van Agthoven T, Timmermans M, Dorssers LC, Henzen-Logmans SC. Expression of estrogen, progesterone and epidermal growth factor receptors in primary and metastatic breast cancer. *Int J Cancer.* 1995;63(6):790-793.
17. Horwitz KB, McGuire WL. Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. *Science.* 1975;189(4204):726-727.
18. American Society of Clinical Oncology. Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 1996;14(10):2843-2877.
19. 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.
20. ODE Guidance documents, Center for Devices and Radiological Health, updated 7/29/1996. Draft: Premarketing approval review criteria for premarket approval of estrogen (ER) or progesterone (PGR) receptors in vitro diagnostic devices using steroid hormone binding (SBA) with dextran coated-charcoal (DCC) separation, histochemical receptor binding assays, or solid phase enzyme immunoassay (EIA) methodologies.
21. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
22. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, *Anatomic Pathology Checklist*, 2010.
23. 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.
24. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med.* 1983;14:767.
25. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem.* 1991;66(4):194-199.
26. 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.
27. Liu S, Chia SK, et al. Progesterone receptor is a significant factor associated with clinical outcomes and effect of adjuvant tamoxifen therapy in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;119(1):53-61.
28. Qiu J, Kulkarni S, et al. Effect of delayed formalin fixation on estrogen and progesterone receptors in breast cancer: a study of three different clones. *Am J Clin Pathol.* 2010;134(5):813-9.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

CONFIRM, BENCHMARK, *ultraView*, VENTANA a logo VENTANA jsou ochrannými známkami společnosti Roche.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Ventana Medical Systems, Inc. poskytuje konečnému uživateli jednorázovou licenci v souladu s patenty USA, čísla 6045759, 6945128, a 7378058, a zahraničními stejnopisy.

© 2011 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTNÍ INFORMACE

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755

USA

+1 520 887 2155

+1 800 227 2155 (USA)



www.ventana.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany