



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
Las Malvinas son argentinas

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-004768-22-8

---

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-004768-22-8 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Productos Roche S.A.Q. e I solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado: Ventana.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL  
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Ventana de acuerdo con lo solicitado por Productos Roche S.A.Q. e I con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-98575458-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 740-824 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

## DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Marca comercial: Ventana

Indicación/es de uso:

VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (VENTANA HER2 (4B5) antibody) se ha diseñado para la detección semicuantitativa del antígeno HER2 en secciones de tejido gástrico y mamario neoplásico y normal fijado en formalina e incluido en parafina en un instrumento BenchMark IHC/ISH.

Este producto está indicado como método auxiliar en la evaluación de los pacientes con cáncer gástrico y de mama para los que se contempla el tratamiento con Herceptin y para las pacientes con cáncer de mama a las que se proyecta tratar con KADCYLA® (ado-trastuzumab emtansine) o PERJETA® (pertuzumab).

Este producto debe ser interpretado por un anamopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

Modelos:

VEN anti-HER2/neu (4B5) RM PAB-US EXPORT (Catálogo 05999570001).

Forma de presentación: Envases por 50 determinaciones, conteniendo un dispensador de 5 ml.

Un dispensador VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody de 5 mL contiene aproximadamente 30 g de anticuerpo monoclonal de conejo dirigido contra el antígeno c-erbB-2. El anticuerpo se diluye en un tampón de solución salina con Tris 0,05 M, EDTA 0,01 M, Brij-35 al 0,05 % con una proteína transportadora al 0,3 % y azida sódica al 0,05 %, un conservante. Existen rastros de suero fetal bovino, aproximadamente un 0,25 %, presente en la solución madre.

La concentración de proteína total del reactivo es de aproximadamente 16 mg/mL. La concentración del anticuerpo específico es de aproximadamente 6 g/mL. El VENTANA HER2 (4B5) antibody es una IgG de conejo diluida a partir de sobrenadante de cultivo tisular.

Período de vida útil y condición de conservación: 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8 °C

Nombre del fabricante:

Ventana Medical Systems, Inc. para Roche Diagnostics GmbH.

Lugar de elaboración:

Ventana Medical Systems, Inc. 1910 E. Innovation Park Drive. Tucson, Arizona 85755. (USA) para Roche Diagnostics GmbH Sandhofer Strasse 116 D-68305 Mannheim. (ALEMANIA)

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-004768-22-8

N° Identificador Trámite: 40708

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa  
Date: 2022.11.11 16:32:25 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.11.11 16:32:35 -03:00

PROYECTO DE ROTULO

Nombre: VENTANA anti-HER2/neu (4B5)

Cat N°: 05999570001

 **VENTANA®**

**VENTANA anti-HER2/neu  
(4B5) Rabbit Monoclonal  
Primary Antibody**  
5 mL (~6 µg/mL)

**REF** 790-4493  
**GTIN** 04015630984237  
**LOT** A99999  
 2091-12-25  
 2099-11-15

(240) 05999570001 -Roche #

  50

**IVD**  2°C-8°C

  
790-4493A99999 0001

 **Roche Diagnostics GmbH**  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim, Germany

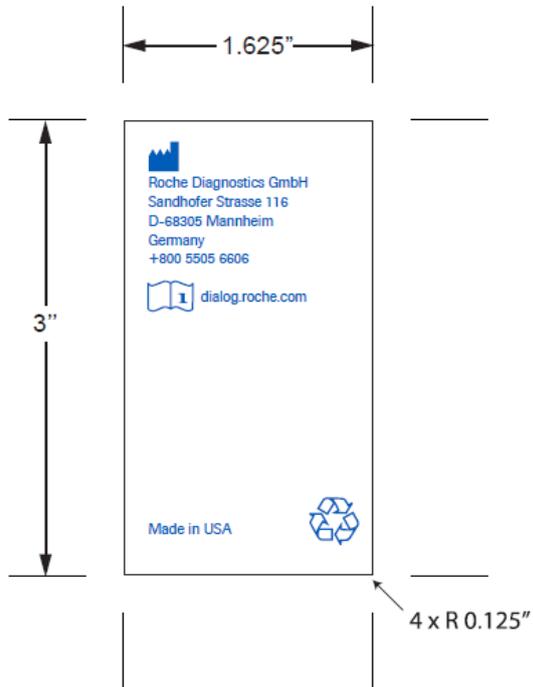
 **VENTANA®**

**VENTANA anti-HER2/neu(4B5)  
Rabbit Monoclonal Primary  
Antibody**  
5 mL (~6 µg/mL)

**REF** 790-4493  2099-11-15  
**LOT** A99999  
**GTIN** 04015630984237  50

  **IVD**  2°C-8°C

Farm. ROBERTA MILE MAZZA  
PRODUCIOS ROCHE S.A. de I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL



### Sobre-rótulo local

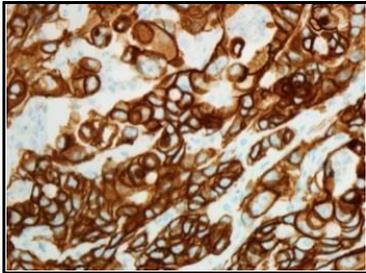
DT.: Farm. R. Mele Mazza.  
Productos Roche S.A.Q. e I.  
(División Diagnóstica).  
Otto Krause 4211 (CP1667)  
Bs As, Arg. Producto autorizado  
por ANMAT PM-740-824  
Uso profesional exclusivo

Farm. ROBERTA MELE MAZZA  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
División Diagnóstica.  
DT & APODERADA LEGAL

## VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

**REF** 790-4493  
05999570001

**IVD**  50



**Figura 1. VENTANA HER2 (4B5) antibody 3+ en carcinoma gástrico.**

### USO PREVISTO

VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (VENTANA HER2 (4B5) antibody) se ha diseñado para la detección semicuantitativa del antígeno HER2 en secciones de tejido gástrico y mamario neoplásico y normal fijado en formalina e incluido en parafina en un instrumento BenchMark IHC/ISH.

Este producto está indicado como método auxiliar en la evaluación de los pacientes con cáncer gástrico y de

mama para los que se contempla el tratamiento con Herceptin y para las pacientes con cáncer de mama a las que se proyecta tratar con KADCYLA® (ado-trastuzumab emtansine) o PERJETA® (pertuzumab).

Este producto debe ser interpretado por un anamopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El VENTANA HER2 (4B5) antibody es un anticuerpo monoclonal de conejo (clone 4B5) dirigido contra el dominio interno de la oncoproteína c-erbB-2 (HER2). La oncoproteína-CerbB-2 fue clonada y caracterizada por Akiyama et al en 1986.<sup>1</sup> Se trata de una glucoproteína transmembranaria de aproximadamente 185 kD que es estructuralmente similar al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). La proteína está asociada a la actividad de tirosina cinasa similar a la de diversos receptores del factor de crecimiento y a la de las proteínas transformadoras de la familia *src*. La secuencia de codificación es coherente con un dominio de unión extracelular y un dominio de cinasa extracelular. Esto sugiere que el HER2 pueda estar implicado en la transducción de la señal y la estimulación de la actividad mitogénica.<sup>1</sup>

Se ha demostrado que clone 4B5 reacciona con una proteína 185 kD de 3 lisados celulares SK-BR mediante inmunotransferencia. SK-BR es una línea celular de carcinoma de mama que presenta una sobreexpresión del ARNm de la HER2 multiplicada por 128.<sup>2</sup> El tamaño de la banda identificada está bien correlacionado con el que se ha notificado para la proteína HER2 (185 kD).<sup>1</sup> Los experimentos de inmunohistoquímica con líneas celulares transfectadas (HEK293) han mostrado que clone 4B5 tiñe las células transfectadas con HER2 y las células transfectadas con HER4. No se observó tinción de las células transfectadas con HER1 o HER3. Los datos de inmunotransferencia con proteína HER4 recombinante también indicaron que clone 4B5 reconoce un epítipo de HER4.

En el carcinoma de mama la proteína HER2 se expresa en un nivel detectable por inmunohistoquímica en un índice de hasta el 20 % de adenocarcinomas de varios puntos. Entre el 15 % y el 30 % de cánceres ductales invasivos son positivos para HER2.<sup>3</sup> Casi todos los casos de enfermedad de Paget de mama<sup>4</sup> y hasta el 90 % de casos de carcinoma ductal *in situ* de tipo comedo son positivos.<sup>3</sup> En el carcinoma gástrico, la proteína HER2 se expresa en un nivel detectable por inmunohistoquímica en hasta el 30 % del tipo intestinal, el 15 % del tipo mixto y el 5 % de cánceres gástricos de tipo difuso. La detección inmunohistoquímica de la sobreexpresión de la proteína HER2 también se utiliza como ayuda en la determinación de pacientes para los que está indicada la terapia con HER2.<sup>5-10</sup>

Ventana evaluó los resultados de la tinción en tejidos normales, tejidos neoplásicos y 322 casos de carcinoma de mama con clone 4B5. En los tejidos normales sometidos a la prueba, la expresión era coherente con la bibliografía publicada en que no había tinción

citoplasmática/de membrana específica inesperada, con las siguientes excepciones: dos casos de amígdala que muestra tinción de la membrana celular epitelial, un caso de paratiroides y un caso de epitelio esofágico. De los tejidos neoplásicos analizados, se observó tinción citoplasmática/de membrana en células cancerosas de mama, colon y ovario. Se evaluaron trescientos veintidós (322) carcinomas de mama con clone 4B5 en un estudio comparativo de métodos con PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody. Existe una correlación significativa de tinción entre estos dos análisis. Consulte la sección Interpretación de las tinciones/Resumen de resultados previstos para obtener más información.

El uso de VENTANA HER2 (4B5) antibody prediluido e IVIEW DAB Detection Kit y *ultraView* Universal DAB Detection Kit, junto con un instrumento BenchMark IHC/ISH, reduce la posibilidad de error humano y la variabilidad inherente que resulta de la dilución de reactivos individuales, el pipetado manual y la aplicación manual de reactivos.

### IMPORTANCIA CLÍNICA

El cáncer de mama es el carcinoma más frecuente en las mujeres y la segunda causa principal de muerte relacionada con el cáncer. En Norteamérica, la probabilidad de que una mujer contraiga cáncer de mama es una de cada ocho.<sup>11</sup> La detección precoz y las terapias de tratamiento adecuadas pueden afectar significativamente a la supervivencia global.<sup>12</sup> El cáncer gástrico es la cuarta causa de cáncer más común y la segunda causa principal de muerte por cáncer. La cirugía es el tratamiento más común para el cáncer gástrico. Sin embargo, la mayoría de los casos de cáncer gástrico se detectan en un estadio avanzado, por lo que la cirugía suele ser complicada. Se utiliza la quimioterapia para tratar el cáncer gástrico avanzado, aunque la supervivencia de los pacientes es muy baja. Las muestras de tejidos pequeños se pueden utilizar fácilmente en la inmunohistoquímica (IHC) de rutina, lo que convierte esta técnica, junto con los anticuerpos que detectan antígenos importantes para la interpretación del carcinoma, en una herramienta eficaz para los anatomopatólogos en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Un marcador importante del cáncer gástrico y de mama hoy en día es la oncoproteína c-erbB-2 (HER2).

HER2 es una proteína transmembranaria.<sup>13</sup> Está estrechamente relacionada con EGFR y, al igual que EGFR, tiene actividad de la tirosina cinasa.<sup>1</sup> La amplificación génica y la correspondiente sobreexpresión de c-erbB-2 se ha encontrado en una variedad de tumores, incluyendo carcinomas de mama y gástricos.<sup>13,14</sup>

Se ha demostrado que las terapias con HER2 son beneficiosas para algunos pacientes con carcinoma gástrico y de mama. Sólo se benefician del tratamiento con HER2 los pacientes con carcinomas gástricos y de mama con HER2 positivo. Los diagnósticos *in vitro* para la determinación del estado de la HER2 en los carcinomas gástricos y de mama son importantes para ayudar al oncólogo a la hora de determinar la identificación de pacientes que reúnan los requisitos para recibir el tratamiento con la terapia con HER2. La interpretación de los resultados de cualquier sistema de detección para HER2 debe tener en cuenta el hecho de que el HER2 se expresa tanto en los tumores cancerosos de mama o gástricos y en el tejido sano, aunque en niveles diferentes y con distintos patrones de expresión.<sup>15</sup> Las preparaciones de tejido histológicas tienen la ventaja de que la morfología del tejido intacto contribuye a la interpretación de la positividad para HER2 de la muestra.

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El VENTANA HER2 (4B5) antibody es un anticuerpo monoclonal de conejo que se fija a la HER2 en secciones de tejidos incluidos en parafina. El anticuerpo específico puede encontrarse mediante una formulación de anticuerpo secundario conjugado con biotina que reconozca las inmunoglobulinas de conejo, seguido de la adición de un conjugado de estreptavidina-peroxidasa de rábano (HRP por sus siglas en inglés) (*VIEW* DAB Detection Kit) o un conjugado secundario de anticuerpos-HRP (*ultraView* Universal DAB Detection Kit). El complejo anticuerpo-enzima específico se visualiza entonces con un producto de reacción de precipitación de la enzima. Cada paso se incubaba durante un tiempo y a una temperatura precisos. Al final del paso de incubación, el instrumento BenchMark IHC/ISH enjuaga las secciones para detener la reacción y eliminar el material no unido que impediría la reacción deseada en los pasos siguientes. También aplica Liquid Coverslip, que minimiza la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos de la muestra.

Los casos clínicos deben evaluarse junto con la realización de controles apropiados. Ventana recomienda la inclusión de un control positivo de tejido fijado y procesado de la misma manera que la muestra del paciente (por ejemplo, un carcinoma de mama o útero escasamente positivo). Además de la tinción con VENTANA HER2 (4B5) antibody se debe teñir un segundo portaobjetos con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Para que el

Farm. ROBERTA NELLE MAZZA  
PRODUCIOS ROCHE S.A.C. e I.  
Divisione Diagnostico  
DT & APODERADA LEGAL

análisis se considere válido, el tejido de control positivo debe presentar tinción de la membrana de las células tumorales. Estos componentes deben ser negativos cuando se tiñen con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. Además, es recomendable que se incluya un portaobjetos de control tisular negativo (por ejemplo, un carcinoma gástrico o de mama con HER2 negativa) para cada lote de muestras procesadas y analizadas en el instrumento BenchMark IHC/ISH. Este control tisular negativo debe tintarse con el VENTANA HER2 (4B5) antibody para garantizar que el aumento de antígenos y otros procedimientos previos al tratamiento no creen una tinción con un resultado falso positivo.

## REACTIVOS SUMINISTRADOS

VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody de 5 mL contiene aproximadamente 30 µg de anticuerpo monoclonal de conejo dirigido contra el antígeno c-erbB-2.

El anticuerpo se diluye en un tampón de solución salina con Tris 0,05 M, EDTA 0,01 M, Brij-35 al 0,05 % con una proteína transportadora al 0,3 % y azida sódica al 0,05 %, un conservante. Existen rastros de suero fetal bovino, aproximadamente un 0,25 %, presente en la solución madre.

La concentración de proteína total del reactivo es de aproximadamente 16 mg/mL. La concentración del anticuerpo específico es de aproximadamente 6 µg/mL. El VENTANA HER2 (4B5) antibody es una IgG de conejo diluida a partir de sobrenadante de cultivo tisular.

Consultar el folleto correspondiente del kit de detección VENTANA para descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Materiales y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Interpretación de los resultados, Limitaciones generales y Resolución de problemas.

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción, como los kits de detección VENTANA ni componentes auxiliares, incluidos los portaobjetos de control tisular negativos y positivos.

No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local.

No se incluyen los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 60 °C ± 5 °C
4. Etiquetas de código de barras
5. Xileno (calidad histológica)
6. Etanol o alcohol adecuado como reactivo (calidad histológica)
  - Solución al 100 %: etanol o alcohol reactivo sin diluir
  - Solución al 95 %: mezclar 95 partes de etanol o alcohol reactivo con 5 partes de agua desionizada
  - Solución al 80 %: mezclar 80 partes de etanol o alcohol reactivo con 20 partes de agua desionizada
7. Agua desionizada o destilada
8. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (N.º de cat. 790-4795 / 06683380001)
9. ultraView DAB Detection Kit (N.º de cat. 760-500 / 05269806001)
10. MIEW DAB Detection Kit (N.º de cat. 760-091 / 05266157001 (50 pruebas))
11. EZ Prep Concentrate (10X) (N.º de cat. 950-102 / 05279771001)
12. Reaction Buffer Concentrate (10X) (N.º de cat. 950-300 / 05353955001)
13. LCS (Predilute) (N.º de cat. 650-010 / 05264839001)
14. ULTRA LCS (Predilute) (N.º de cat. 650-210 / 05424534001)
15. Cell Conditioning Solution (CC1) (N.º de cat. 950-124 / 05279801001)
16. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (N.º de cat. 950-224 / 05424569001)
17. Hematoxylin II (N.º de cat. 790-2208 / 05277965001)
18. Bluing Reagent (N.º de cat. 760-2037 / 05266769001)
19. Medio de montaje permanente (Permount Fisher N.º de cat. SP15-500 o equivalente)
20. Cubreobjetos de cristal (suficiente para cubrir el tejido, como VWR N.º de cat. 48393-060)

21. Cubreobjetos automatizado (como el Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
22. Microscopio óptico
23. Toallitas absorbentes

## CONSERVACIÓN

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese de 2 a 8 °C. No congelar.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. Si se conserva correctamente, este reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

## PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados con formol y embebidos en parafina son adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.<sup>2</sup> Los portaobjetos deberían teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de las secciones de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.

Se deben obtener secciones de un grosor aproximado de 4 µm y colocarlos en portaobjetos de vidrio. Los portaobjetos deben ser Superfrost Plus o equivalentes. Los estudios en Ventana indican que el tejido cortado secado al aire y las secciones de líneas celulares almacenadas a 2-8 °C son estables durante 6 meses como mínimo. Cada laboratorio debe validar la estabilidad del corte en el portaobjetos con sus propios procedimientos y condiciones de conservación ambientales.

## AVISOS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro* (DIV).
2. Solo para uso profesional.
3. Los portaobjetos cargados positivamente pueden ser sensibles a tensiones ambientales que ocasionen una tinción inapropiada de cualquier ensayo de IHC (por ejemplo, falta de anticuerpo primario o contratinción en el tejido). Solicite a su representante de Roche una copia de "Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides" para comprender mejor cómo utilizar estos tipos de portaobjetos.
4. Es posible que el uso de este producto para la selección de pacientes elegibles para la terapia con KADCYLA o PERJETA no esté disponible en todas las zonas geográficas. Consulte a su representante local de Roche para confirmar la disponibilidad en lugares concretos.
5. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales peligrosos para el medioambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas.
6. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
7. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
8. Si se usa conforme a las instrucciones, este producto no está clasificado como sustancia peligrosa. El conservante del reactivo es azida sódica. Los síntomas de sobreexposición a la azida sódica son irritación cutánea y ocular e irritación de las membranas mucosas y de las vías respiratorias altas. La concentración de azida sódica de este producto es del 0,05 % y no cumple los criterios OSHA para sustancias peligrosas. La acumulación de NaN<sub>3</sub> puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre formando azidas metálicas muy explosivas. Después de desecharla, limpiar con agua abundante para evitar la acumulación de azida sódica en las cañerías.<sup>16</sup> Es posible que se produzcan reacciones alérgicas sistémicas en personas sensibles.
9. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
10. Para obtener información de seguridad complementaria, consulte la hoja de datos de seguridad del producto y la guía de símbolos y riesgos que encontrará en [www.ventana.com](http://www.ventana.com).

Farm. ROBERTA MILLE MAZZA  
 PRODUCIOS ROCHE S.A.C. e I.  
 Division Diagnostica  
 DT & APODERADA LEGAL

## PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios de VENTANA se han optimizado para su uso en instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección VENTANA y sus accesorios. Consulte Tabla 1 y Tabla 2 para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el manual del usuario de los instrumentos. Consulte el prospecto correspondiente del kit de detección de VENTANA para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

**Tabla 1.** Protocolo de tinción recomendado para el VENTANA HER2 (4B5) antibody con MIEW DAB Detection Kit en los instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	Instrumento BenchMark o BenchMark GX	Instrumento BenchMark XT	Instrumento BenchMark ULTRA
Desparafinación	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (Desenmascaramiento del antígeno)	CC1, Estándar	CC1, Estándar	ULTRA CC1, Suave
Anticuerpo (Primario)	32 minutos, 37 °C	32 minutos, 37 °C	24 minutos, 36 °C
Bloqueo A/B (Bloqueo con biotina)	No seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Contratinción (Hematoxylin)	Hematoxylin II, 4 minutos	Hematoxylin II, 4 minutos	Hematoxylin II, 4 minutos
Post contratinción	Bluing, 4 minutos	Bluing, 4 minutos	Bluing, 4 minutos

**Tabla 2.** Protocolo de tinción recomendado para el VENTANA HER2 (4B5) antibody con ultraView DAB Detection Kit en los instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método	
	Instrumento BenchMark o BenchMark GX o BenchMark XT	Instrumento BenchMark ULTRA
Desparafinación	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (Desenmascaramiento del antígeno)	CC1, suave	ULTRA CC1, suave
Anticuerpo (Primario)	16 minutos, 37°C	12 minutos, 36°C
ultraWash	Seleccionado	Seleccionado
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos	Hematoxylin II, 4 minutos
Post contratinción	Bluing, 4 minutos	Bluing, 4 minutos

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, el acondicionamiento celular en función de las muestras particulares, de la detección que se

haya utilizado y de las preferencias del profesional encargado de la lectura. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte "Immunohistochemistry Principles and Advances" <sup>3</sup> Tabla 3 describe los procedimientos de tinción recomendados para los carcinomas de mama y gástricos.

**Tabla 3.** Procedimiento de tinción.

	Instrumento BenchMark o BenchMark GX	Instrumento BenchMark XT	Instrumento BenchMark ULTRA
Carcinoma de mama	Procedimiento de tinción MIEW DAB o ultraView DAB*	Procedimiento de tinción MIEW DAB o ultraView DAB*	Procedimiento de tinción MIEW DAB o ultraView DAB*
Carcinoma gástrico	GX uVDAB HER2 4B5 Gastric (Tabla 2)	XT uVDAB HER2 4B5 Gastric (Tabla 2)	ULTRA uVDAB HER2 4B5 Gastric (Tabla 2)

\* Las muestras de carcinoma de mama teñidas en instrumentos BenchMark IHC/ISH están utilizando los procedimientos de tinción para MIEW DAB Detection Kit (Tabla 1) o ultraView Universal DAB Detection Kit (Tabla 2)

## PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

### Controles del sistema de líneas celulares

Ventana tiene disponible como producto independiente cuatro controles de líneas celulares fijadas con formol, incluidas en parafina, seccionadas y colocadas en un solo portaobjetos cargado. PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides (N.º de cat. 781-2991) puede resultar útil para realizar una validación preliminar del método de procesamiento utilizado para la tinción de portaobjetos con el VENTANA HER2 (4B5) antibody. Estos cuatro controles de líneas celulares se caracterizan por la hibridación *in situ* para el número de copias del gen. Si se procesan y tiñen de forma adecuada, las líneas celulares deben teñirse como se describe en la Tabla 4. Si la tinción indicada no es patente en los núcleos adecuados, en especial los controles 1+ y 2+, se debe repetir la tinción de los tejidos.

**Tabla 4.** Características de PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides

Puntuación IHC de HER2	Línea celular	Proporción HER2/Chr17*
0	MDA-MB-231	1,11
1+	T47D	1,12
2+	MDA-MB-453	2,66
3+	BT-474	5,53

\* La proporción HER2/Chr17 es una media de tres lotes de PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides que se determina mediante la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH).

### Control de tejido positivo

Se debe analizar un tejido de control positivo fijado y procesado de la misma manera que las muestras del paciente para cada conjunto de condiciones de análisis y con cada procedimiento de tinción del VENTANA HER2 (4B5) antibody realizado. La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Este tejido puede contener células o componentes del tejido de tinción positiva y negativa y servir como tejido de control positivo y negativo. El tejido de control deben ser muestras frescas de autopsia//a preparadas o fijadas con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones en estudio. Este tejido puede servir de control en todos los pasos del análisis, desde la preparación del tejido hasta su tinción. El uso de una sección de tejido fijado o procesado de forma diferente a la muestra en estudio permite el control de todos los reactivos y pasos del método, excepto la fijación y la preparación del tejido. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que uno con tinción positiva fuerte para un control de la calidad óptimo y para detectar niveles de degradación del reactivo de poca importancia. Lo ideal es seleccionar un tejido que se sabe que tiene una tinción débil pero positiva, para garantizar que el sistema es sensible a pequeñas cantidades de degradación del reactivo o a problemas con la metodología

IHC. Sin embargo, generalmente el tejido neoplásico que es positivo para HER2 es altamente positivo debido a la naturaleza de la patología (sobreexpresión). Un ejemplo de control positivo para el VENTANA HER2 (4B5) antibody es una muestra de carcinoma de mama invasivo con HER2 positivo débil o carcinoma gástrico débilmente positivo. Los componentes del tejido de tinción positiva (tinción de la membrana de las células neoplásicas) se utilizan para confirmar que se aplicó el anticuerpo y que el instrumento funcionó correctamente.

Los controles de tejido positivos conocidos sólo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los tejidos procesados y los reactivos de la prueba, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente.

#### Control de tejido negativo

El mismo portaobjetos utilizado para el control tisular positivo (carcinoma de mama invasivo lobular o ductal o carcinoma gástrico) se puede utilizar como control tisular negativo. Los componentes que no son de tinción (estroma circundante, células linfáticas y vasos sanguíneos) deben demostrar la ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo específica (falso positivo) con el anticuerpo principal. Utilice un tejido negativo conocido, fijado, procesado e incluido de forma idéntica a las muestras del paciente.

#### Control de reactivo negativo

Se debe utilizar un control de reactivo negativo para cada muestra para ayudar a interpretar los resultados. Para evaluar una tinción no específica, se utiliza un control de reactivo negativo en lugar del anticuerpo primario. El portaobjetos debe teñirse con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig. El periodo de incubación para el control de reactivo negativo debería ser igual que la incubación del anticuerpo primario.

#### Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas en los controles deben comunicarse al representante local inmediatamente. Si los resultados del control de calidad no cumplen con las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Consulte la sección Solución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema y, a continuación, repita las muestras del paciente.

#### Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un anticuerpo primario o del sistema de tinción en un procedimiento de diagnóstico, debe verificarse la especificidad del anticuerpo analizando una serie de tejidos con características de procesamiento inmunohistoquímicas conocidas que representen tanto tejidos positivos como negativos (consulte los Procedimientos de control de calidad previamente esbozados en esta sección del folleto de producto y las recomendaciones de Control de calidad del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Lista de verificación de patología anatómica,<sup>17</sup> o las pautas aprobadas de CLSI<sup>18</sup> o ambos documentos). Estos procedimientos del control de calidad se deben repetir para cada nuevo lote de anticuerpos, o bien cuando haya un cambio en los parámetros del ensayo. Los tejidos cancerosos mamarios y gástricos con un estado de HER2 conocido son adecuados para la verificación del ensayo.

#### INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES / RESULTADOS ESPERADOS

El procedimiento de inmunotinción automatizado de VENTANA hace que el producto de reacción de color marrón (DAB) se precipite en los puntos del antígeno localizados por el VENTANA HER2 (4B5) antibody. Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles y calificar el producto teñido antes de interpretar los resultados.

#### Convenciones de puntuación para la interpretación del VENTANA HER2 (4B5) antibody en el carcinoma de mama

Los carcinomas de mama que se consideran positivos en cuanto a la sobreexpresión de la proteína HER2 deben cumplir los criterios del umbral relativo a la intensidad de la tinción (2+ o más en una escala de 0 a 3+) y al porcentaje de células tumorales positivas (más del 10%). La tinción se debe localizar también en la membrana celular. Puede haber presencia de tinción citoplasmática, pero esta tinción no está incluida en la determinación de la positividad. Examine la sección completa del tejido para garantizar la puntuación sólo en las áreas bien tintadas y bien conservadas. Una tinción que rodea por completo la membrana citoplasmática se debe puntuar como una intensidad de "2+" o de "3+". La tinción parcial de la membrana se deberá puntuar con un "1+". Puede que sea necesario examinar los casos extremos con una amplificación de 40 aumentos o superior para discriminar entre intensidades de "1+" y "2+". En contraste con los casos puntuados con una intensidad de 3+, la tinción puntuada con un 2+ presenta un anillo más nítido y más claramente delineado, mientras que casos puntuados con un 3+ presentan un

contorno muy grueso. A continuación se muestra una tabla de referencia rápida con los criterios de tinción. Consulte el *Interpretation Guide for VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody Staining of Breast and Gastric Carcinoma (Número de catálogo 1012716)* para obtener una descripción más detallada con fotografías de tinción con el VENTANA HER2 (4B5) antibody.

**Tabla 5.** Criterios para la intensidad y el patrón de tinción de la membrana celular con el VENTANA HER2 (4B5) antibody en el carcinoma de mama.

Patrón de tinción	Puntuación (Notificar al médico que trata al paciente)	Evaluación de la tinción HER2
No se observa tinción de la membrana	0	Negativo
Tinción ligera y parcial de la membrana en cualquier proporción de las células cancerosas	1+	Negativo
Tinción completa débil de la membrana, más del 10 % de las células cancerosas	2+	Equívoco*
Tinción intensa débil de la membrana, más del 10 % de las células cancerosas	3+	Positivo

\* Reflejo recomendado para ISH

#### Convenciones de puntuación para la interpretación del VENTANA HER2 (4B5) antibody en el carcinoma gástrico

Los carcinomas gástricos que se consideran positivos para la sobreexpresión de la proteína HER2 deben cumplir los criterios del umbral para la intensidad y el patrón de tinción de la membrana (2+ o más en una escala de 0 a 3+) y para el porcentaje de células tumorales positivas. La tinción debe localizarse en la membrana celular, pero no tiene que ser una circunferencia completa, ya que la tinción basolateral se observa regularmente y se debe tener en cuenta para la puntuación. Puede estar presente la tinción del citoplasma y/o el núcleo, pero esta tinción no se incluye en la determinación de la positividad. En el carcinoma gástrico, el porcentaje de células tumorales positivas depende de si la muestra procede de una biopsia ( $\geq 5$  células cohesivas) o de una resección ( $\geq 10$  %).

Al establecer las pautas de puntuación para la inmunohistoquímica de la HER2 en el cáncer gástrico<sup>19</sup> observe que, aunque la tinción de la membrana fuerte es una prueba de la sobreexpresión de la proteína HER2 en las células neoplásicas, no tiene que ser una circunferencia completa.

Se ha notificado tinción citoplasmática difusa con o sin tinción del núcleo en el cáncer gástrico.<sup>20</sup> Sólo se debe utilizar la tinción de la membrana en la determinación de la expresión de la proteína HER2 en el cáncer gástrico.

La tinción inmunohistoquímica con clone 4B5 puede producir la tinción nuclear y citoplasmática de la mucosa gástrica normal y, con menos frecuencia, de las células neoplásicas en el carcinoma gástrico y el carcinoma gástrico/esofágico. La naturaleza de esta tinción nuclear y citoplasmática se desconoce en la actualidad. Este patrón de tinción no se debe confundir con la tinción de membrana discreta, ya que es indicativa de la positividad de HER2 en las células neoplásicas.

Consulte *Interpretation Guide for VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody Staining of Breast and Gastric Carcinoma* para obtener una descripción más detallada con fotomicrofotografías de tinción con el VENTANA HER2 (4B5) antibody.

Farm. ROBERTA MILLE MAZZA  
 PRODUCIOS ROCHE S.A. C e I.  
 Division Diagnostica  
 DT & APODERADA LEGAL

**Tabla 6.** Criterios para la intensidad y el patrón de tinción de la membrana celular con el VENTANA HER2 (4B5) antibody en el carcinoma gástrico.

Patrón de tinción - Muestra de resección	Patrón de tinción - Muestra de biopsia	Puntuación (informar al médico solicitante)	Evaluación de la tinción HER2
Ninguna reactividad o reactividad de membrana en <10 % de las células tumorales	Ninguna reactividad o reactividad membranosa en cualquier célula tumoral	0	Negativo
Reactividad membranosa débil/penas perceptible en ≥10 % de las células tumorales; las células son reactivas solo en parte de su membrana	Aglomerado de células tumorales* con una reactividad de membrana débil/penas perceptible independiente del porcentaje de células tumorales teñidas	1+	Negativo
Reactividad membranosa completa, basolateral o lateral de débil a moderada en ≥10 % de las células tumorales	Aglomerado de células tumorales* con reactividad de membrana completa, basolateral o lateral de débil a moderada independientemente del porcentaje de células tumorales teñidas	2+	Equívoco**
Reactividad membranosa completa, basolateral o lateral fuerte en ≥10 % de las células tumorales	Aglomerado de células tumorales con reactividad membranosa completa, basolateral o lateral fuerte independientemente del porcentaje de células tumorales teñidas	3+	Positivo

\* ≥5 de células cohesivas

\*\* Reflejo recomendado para ISH

## LIMITACIONES

### Limitaciones generales

- La inmunohistoquímica es un proceso diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección adecuada de los reactivos, tejidos, fijación, procesado, preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica e interpretación de los resultados de tinción.
- La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesado de los mismos antes de la tinción. Un proceso de fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados, o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede producir defectos, bloqueo del anticuerpo o resultados falsos negativos. Los resultados incoherentes pueden proceder de las variaciones en los métodos de fijación y embibimiento, o bien de las irregularidades inherentes del tejido.
- Una contratación excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
- La interpretación clínica de una tinción positiva o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción debe completarse con los estudios morfológicos y controles adecuados, además de otras pruebas diagnósticas. Es responsabilidad de un anatomopatólogo cualificado

familiarizarse con los anticuerpos, reactivos y métodos usados para interpretar la preparación tintada. La tinción debe realizarse en un laboratorio certificado, con la supervisión de un patólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.

- Ventana suministra anticuerpos y reactivos a una dilución óptima para su uso, siempre que se sigan las instrucciones proporcionadas. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados del método puede invalidar los resultados esperados. Se deben utilizar y documentar los controles apropiados. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos recomendados del método deben aceptar su responsabilidad en la interpretación de los resultados del paciente en esas circunstancias.
- Este producto no está diseñado para su uso en citometría de flujo; las características de su rendimiento no se han determinado.
- Los reactivos pueden presentar reacciones inesperadas en tejidos que no se han sometido a pruebas previamente. No es posible excluir totalmente la posibilidad de reacciones inesperadas ni siquiera en grupos de tejidos estudiados debido a la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias o en otros tejidos patológicos.<sup>21</sup> Póngase en contacto con el representante local en lo referente a las reacciones inesperadas documentadas.
- Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contengan antígeno de superficie (HBsAg) pueden mostrar una tinción no específica con peroxidasa de rábano.<sup>22</sup>
- Se pueden ver resultados falsos positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o productos de reacción de sustratos. También pueden estar causados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos), de la peroxidasa endógena (citocromo C) o por la biotina endógena (por ejemplo, hígado, cerebro, mama o riñón) dependiendo del tipo de inmunotinción utilizada.<sup>23</sup>
- Como en cualquier prueba de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, no que el antígeno esté ausente de las células o del tejido analizado.

### Limitaciones específicas

- Se ha optimizado el anticuerpo como se indica en las tablas 1 y 2 para las químicas de detección y plataformas de VENTANA. Debido a la variación del procesamiento y la fijación de tejidos, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales. Para más información acerca de las variables de fijación, consulte "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>24</sup>
- El anticuerpo, en combinación con los kits de detección y los accesorios VENTANA, detecta el antígeno que sobrevive a la fijación en formol, el procesamiento y el corte de tejido rutinarios. Los usuarios que se desvíen de los procedimientos de la prueba recomendados son responsables de la interpretación y validación de los resultados del paciente.
- No se analizó la especificidad de la médula ósea. El usuario debe determinar la tinción apropiada en los tejidos anteriores antes de interpretar la información de la tinción.
- La tinción inmunohistoquímica con clon 4B5 puede producir la tinción nuclear y citoplasmática de la mucosa gástrica normal y, con menos frecuencia, de las células neoplásicas en el carcinoma gástrico y el carcinoma gástrico/esofágico. La naturaleza de esta tinción nuclear y citoplasmática se desconoce en la actualidad. Este patrón de tinción no se debe confundir con la tinción de membrana discreta indicativa de la positividad de HER2 en las células neoplásicas.
- Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de Roche para obtener más información.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Sensibilidad y especificidad

El comportamiento del VENTANA HER2 (4B5) antibody se evaluó mediante la especificidad, la reproducibilidad y los estudios comparativos de métodos. Toda la tinción se realizó con el protocolo del MIEW DAB Detection Kit que se mostró anteriormente en un instrumento BenchMark XT a menos que se especifique lo contrario. Los datos se presentan primero para el carcinoma de mama y, después, para los carcinomas gástricos. Se realizaron pruebas de tinción para especificidad, sensibilidad y repetibilidad, y los resultados se detallan en la Tabla 7 y en la Tabla 8 y en la sección Precisión.

### Especificidad

**Tabla 7.** La especificidad del VENTANA HER2 (4B5) antibody se determinó analizando tejidos normales fijados con formol y embebidos en parafina.

Tejido	N.º de casos positivos / total	Tejido	N.º de casos positivos / total
Cerebro	0/6	Útero	0/3
Cerebelo	0/6	Médula ósea	0/3
Glándula suprarrenal	0/6	Pulmón	0/6
Ovario	0/6	Corazón	0/5
Páncreas	0/6	Esófago	1/6
Glándula paratiroide	4/6*	Estómago	0/11
Hipófisis	0/5	Intestino delgado	0/3
Testículos	0/6	Colon	0/46
Tiroides	0/6	Hígado	0/6
Mama	0/16	Glándula salival	0/3
Bazo	0/6	Riñón	0/6
Amígdala	3/6**	Próstata	1/6
Endometrio	0/3	Cuello del útero	0/5
Músculo esquelético	0/6	Piel	0/6
Nervio periférico	2/6	Mesotelio y pulmón	0/3
Timo	0/5	Vejiga	3/3
Pericardio cardíaco	0/3	Ganglio linfático	0/12
Endocervix	0/1	Recto	0/6
Intestino	0/3	Lengua	0/3

\* tinción de membrana focal

\*\* tinción focal de células epiteliales superficiales

### Sensibilidad

**Tabla 8.** La sensibilidad del VENTANA HER2 (4B5) antibody se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos fijados con formol y embebidos en parafina.

Patología	N.º de casos positivos / total
Glioblastoma (cerebro)	0/2
Meningioma (cerebro)	0/1
Oligodendroglioma (cerebro)	0/1
Adenocarcinoma seroso (ovario)	0/2
Carcinoma ovárico NOS (sin otra especificación)	1/2
Neoplasia pancreática neuroendocrina (páncreas)	0/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1
Seminoma (testículos)	0/1
Carcinoma embrionario (testículos)	0/1
Carcinoma pancreático NOS	0/3

Patología	N.º de casos positivos / total
Carcinoma medular (tiroides)	0/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma de tiroides NOS	0/3
Carcinoma ductal microinvasivo (Mama)	2/2
Carcinoma ductal invasivo (mama)	44/99
Carcinoma de mama NOS	1/4
Linfoma de células B; NOS (bazo)	0/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (pulmón)	0/1
Carcinoma pulmonar NOS	0/2
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	0/1
Adenocarcinoma mucinoso (estómago)	0/4
Adenocarcinoma (estómago)	8/91
Carcinoma de células en anillo de sello (estómago)	0/4
Carcinoma gástrico NOS	0/3
Adenocarcinoma (intestino delgado)	0/1
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (intestino delgado)	0/1
Adenocarcinoma (colon)	2/36
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (colon)	0/1
Adenocarcinoma (recto)	1/5
Tumor estromal gastrointestinal (GIST) (recto)	0/1
Carcinoma renal NOS	0/5
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/6
Hepatoblastoma (hígado)	0/1
Leiomioma	0/3
Carcinoma de células claras (riñón)	0/1
Adenocarcinoma (próstata)	0/4
Carcinoma prostático NOS	0/3
Linfoma NOS	0/3
Linfoma de Hodgkin (ganglio linfático)	0/1
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/1
Leiomiomasarcoma (vejiga)	0/1
Osteosarcoma (hueso)	0/1
Rabdomyosarcoma pleomórfico (peritoneo)	0/1
Leiomiomasarcoma (músculo liso)	0/1
Adenocarcinoma metastásico (de recto)	0/1

Patología	N.º de casos positivos / total
Adenocarcinoma metastásico (de colon)	0/7
Adenocarcinoma mucinoso metastásico (de colon)	0/1
Carcinoma de colon NOS	1/3
Melanoma	0/2
Carcinoide	0/2
Sarcoma NOS	0/2
Cáncer indiferenciado	0/1

- La tinción positiva en el epitelio tonsilar, epitelio esofágico, próstata, nervio periférico, paratiroides, cáncer de mama, colon y cáncer de ovarios es coherente con la literatura publicada relacionada con la expresión de la HER2.
- Sensibilidad: La sensibilidad se demuestra en las tablas 12 y 14: Puntuaciones de consenso de IHC de clon 4B5 de tres anatomopatólogos en comparación con FISH.
- Se determinó la reproducibilidad intraanálisis en las plataformas BenchMark y BenchMark XT teniendo tres portaobjetos, cada uno con cinco tejidos con cáncer de mama con una puntuación de 0,1+, 2+, y 3+ de la expresión de HER2. En cada caso, tres de cada 3 portaobjetos se tintaron de forma adecuada dentro de un análisis y para todas las plataformas del instrumento probadas. Los usuarios deben verificar los resultados de reproducibilidad dentro del análisis teniendo varios conjuntos de cortes en serie con densidad de antígeno baja, mediana y alta en un único análisis.
- Se determinó la reproducibilidad intraanálisis y entre plataformas de la tinción en tres instrumentos diferentes en las plataformas del instrumento BenchMark y BenchMark XT teniendo tres portaobjetos, cada uno con cinco tejidos con cáncer de mama con una puntuación de 0,1+, 2+, y 3+ de la expresión de la HER2. En cada caso, nueve de cada 9 portaobjetos se tiñeron de forma adecuada en tres análisis del instrumento y para todas las plataformas de instrumento probadas.
- Reproducibilidad de la puntuación entre lectores y la tinción entre laboratorios con el instrumento BenchMark XT: han participado tres laboratorios en el estudio de reproducibilidad entre laboratorios. Se enviaron portaobjetos con secciones de 40 casos de carcinoma de mama invasivo fijados con formol tamponado neutro [10 de cada categoría de agrupamiento de HER2 (0-1+, 2+, 3+)] y seis (6) PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides se enviaron a cada uno de los centros para su tinción en una plataforma del instrumento BenchMark XT utilizando el protocolo de tinción recomendado. Los controles incluían los PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides y un segundo portaobjetos de cada caso teñido con un reactivo Ig negativo. Ningún centro experimentó procesos no válidos, basándose en el rendimiento de los controles. Los resultados se analizaron con Ventana. Treinta y cuatro de cuarenta (34/40) portaobjetos exhibieron una intensidad de tinción similar entre centros de tinción. Seis muestras (6/40 o el 15 %) no variaron en más de un 1 nivel de intensidad. Tres (3/6) muestras variaron entre 0 y 1+, ambos considerados negativos. Dos muestras (2/40 o el 5 %) variaron entre 2+ y 3+, y una muestra (1/40) varió entre 1+ y 2+.
- Reproducibilidad de la puntuación entre lectores del instrumento BenchMark XT: en los 40 casos (el 100 %), un mínimo de 2 de 3 anatomopatólogos, coincidieron.
- Se determinó la reproducibilidad lote a lote mediante la tinción automatizada de 5 tejidos con cáncer de mama con puntuaciones de 0,1+, 2+, y 3+ de la expresión de HER2 con tres lotes de HER2 (4B5). Se puntuaron los tejidos tintados en una escala de 0 a 3+ mediante tres lectores cualificados. Hubo una concordancia del 100 % entre lotes y lectores para los 3 portaobjetos y los 5 tejidos teñidos.
- Estudios comparativos del anticuerpo monoclonal de conejo clon 4B5 con clon PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody: resumen de estudios realizados. Se llevó a cabo un estudio comparativo de métodos para examinar la correlación de clon 4B5 con PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody y PathVysion Her-2 FISH, ambas pruebas de diagnóstico previamente aprobadas por la FDA. En el estudio participaron seis investigadores. Dos grupos de tres investigadores diferentes evaluaron dos cohortes independientes (cohorte 1: n=178, cohorte 2: n=144) utilizando casos de cáncer de mama conocidos teñidos

con PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody y clon 4B5. Se obtuvieron los datos de la FISH del historial del paciente. Se creó una puntuación de consenso de los tres lectores de cada anticuerpo para cada caso a fin de reducir la variabilidad en un mismo lector que se sabe que existe con la puntuación HER2.<sup>25, 26, 27</sup> Se evaluó un total de 322 casos. Los portaobjetos tintados con PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody se procesaron y tintaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante especificadas en el prospecto de PATHWAY HER-2/neu (CB11). Existía una media aproximada de un año entre la tinción y la lectura de los portaobjetos tintados de PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody. Como las puntuaciones de uno de los seis lectores estaban fuera del intervalo confianza (IC), los datos de las dos cohortes se presentaron del modo siguiente:

#### Reproducibilidad de las muestras de estudios comparativos entre anatomopatólogos

Tabla 9. Cohorte 1: Puntuaciones de consenso de IHC de tres anatomopatólogos.

Puntuación de clon 4B5	Puntuación de PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody			
	3+	2+	0,1+	Total
3+	29	24	5	58
2+	2	13	17	32
0,1+	0	0	53	53
Total	31	37	75	143

Cohorte 1: Características de comportamiento para presentación 3 x 3.

La concordancia global es (29+13+53)/143 = 66,4 % (IC del 95 % = 38,6 % - 59,7 %).

Cohorte 1: Características de comportamiento para la presentación 2 x 2 (se combinan las puntuaciones de anticuerpos con HER-2 positiva (2+ y 3+) y negativa (0+ y 1+)).

• La concordancia porcentual positiva es (29+2+24+13)/(31+37) = 100 % (IC del 95 % = 97,5 % - 100 %).

• La concordancia porcentual negativa es 53/75 = 70,7 % (IC del 95 % = 58,5 % - 80,1 %).

La concordancia global es (29+24+2+13+53)/143 = 84,7 % (IC del 95 % = 78,2 % - 90,0 %).

Tabla 10. Cohorte 2: Puntuaciones de consenso de IHC de tres anatomopatólogos.

Puntuación de clon 4B5	Puntuación de PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody			
	3+	2+	0,1+	Total
3+	72	1	0	73
2+	1	12	5	18
0,1+	0	7	80	87
Total	73	20	85	178

Cohorte 2: Características de comportamiento para presentación 3 x 3.

La concordancia global es (72+12+80)/178 = 92,1 % (IC del 95 % = 80,1 % - 93,1 %).

Cohorte 2: Características de rendimiento para la presentación 2 x 2 (se combinan las puntuaciones positiva (2+ y 3+) y negativa (0+ y 1+) de anticuerpo para HER-2).

• La concordancia porcentual positiva es (72+12+1+1)/(73+20) = 92,5 % (IC del 95 % = 85,2 % - 96,9 %).

• La concordancia porcentual negativa es 80/85 = 94,1 % (IC del 95 % = 86,8 % - 98,1 %).

La concordancia global es (72+12+1+1+80)/178 = 93,3 % (IC del 95 % = 88,5 % - 96,4 %).

**Tabla 11.** Cohorte 1: Puntuaciones de consenso de IHC de PATHWAY HER-2/neu (CB11) de tres anatomatólogos en comparación con FISH.

Puntuación de PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody	Resultado FISH		
	Positivo	Negativo	Total
3+	32	0	32
2+	32	5	37
0,1+	22	53	75
Total	86	58	144

Cohorte 1: Características de rendimiento para PATHWAYHER-2/NEU (CB11) IHC y FISH, presentación 2 x 2 (donde las puntuaciones 2 y 3 se consideran positivas).

- La concordancia porcentual positiva es  $(32+32)/86 = 74,4\%$  (IC del 95 % = 63,8 % - 83,2 %).
- La concordancia porcentual negativa es  $53/58 = 91,4\%$  (IC del 95 % = 80,9 % - 97,1 %).

La concordancia global es  $(32+32+53)/144 = 81,2\%$  (IC del 95 % = 73,9 % - 87,2 %).

**Tabla 12.** Cohorte 1: Puntuaciones de consenso de IHC de clon 4B5 de tres anatomatólogos en comparación con FISH.

Puntuación de clon 4B5	Resultado FISH		
	Positivo	Negativo	Total
3+	55	3	58
2+	25	8	33
0,1+	6	47	53
Total	86	58	144

Cohorte 1: Características de comportamiento para Clon 4B5 y FISH, presentación 2 x 2 (donde las puntuaciones 2 y 3 se consideran positivas).

- La concordancia porcentual positiva es  $(55+25)/86 = 93,0\%$  (IC del 95 % = 87,9 % - 96,3 %).
- La concordancia porcentual negativa es  $47/58 = 81,0\%$  (IC del 95 % = 73,4 % - 86,0 %).

La concordancia global es  $(55+25+47)/144 = 88,2\%$  (IC del 95 % = 82,1 % - 92,2 %).

**Tabla 13.** Cohorte 2: Puntuaciones de consenso de IHC de PATHWAY HER-2/neu (CB11) de tres anatomatólogos en comparación con FISH.

Puntuación de PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody	Resultado FISH		
	Positivo	Negativo	Total
3+	72	1	73
2+	13	7	20
0,1+	8	77	85
Total	93	85	178

Cohorte 2: Características de rendimiento para PATHWAY HER-2/neu (CB11) IHC y FISH, presentación 2 x 2 (donde las puntuaciones 2 y 3 se consideran positivas).

- La concordancia porcentual positiva es  $(72+13)/93 = 91,3\%$  (IC del 95 % = 85,0 % - 96,7 %).
- La concordancia porcentual negativa es  $77/85 = 90,6\%$  (IC del 95 % = 83,9 % - 96,3 %).

La concordancia global es  $(72+13+77)/178 = 91,0\%$  (IC del 95 % = 86,5 % - 94,9 %).

**Tabla 14.** Cohorte 2: Puntuaciones de consenso de IHC de clon 4B5 de tres anatomatólogos en comparación con FISH.

Puntuación de clon 4B5	Resultado FISH		
	Positivo	Negativo	Total
3+	72	1	73
2+	11	7	18
0,1+	10	77	87
Total	93	85	178

Cohorte 2: Características de comportamiento para Clon 4B5 y FISH, presentación 2 x 2 (donde las puntuaciones 2 y 3 se consideran positivas).

- La concordancia porcentual positiva es  $(72+11)/93 = 89,2\%$  (IC del 95 % = 82,5 % - 95,1 %).
- La concordancia porcentual negativa es  $77/85 = 90,6\%$  (IC del 95 % = 84,0 % - 96,4 %).

La concordancia global es  $(72+11+77)/178 = 90,0\%$  (IC del 95 % = 85,4 % - 93,6 %).

#### Reproducibilidad de las muestras de estudios comparativos entre anatomatólogos

Puesto que es bien sabido que diferentes anatomatólogos pueden tener interpretaciones distintas de los portaobjetos inmunohistoquímicos, se empleó a tres anatomatólogos para cada una de las dos cohortes (para un total de 6 anatomatólogos) para leer todas las muestras. Se empleó la regla de dos de tres para adjudicar los resultados finales. A continuación se muestra un resumen de los resultados variables obtenidos por tres anatomatólogos de las muestras del estudio comparativo para cada cohorte.

**Tabla 15.** Cohorte 1: puntuación de clon 4B5 de los tres anatomatólogos.

Puntuación de HER2	Puntuación de clon 4B5		
	Investigador 1	Investigador 2	Investigador 3
3+	72	70	73
2+	22	19	18
0,1+	80	89	87
Total	174	178	178

Nota: cuando los tres anatomatólogos evaluaron un total de 3 muestras, éstas variaron en más de un nivel de grado (es decir, 0, 2+).

Muestra 1: un anatomatólogo puntuó 2+, dos anatomatólogos puntuaron 0.

Muestra 2: Un anatomatólogo puntuó 0+, dos anatomatólogos puntuaron 2+.

Muestra 3: Un anatomatólogo puntuó 0, el segundo puntuó 1+ y el tercero puntuó 2+.

**Tabla 16.** Cohorte 1: Puntuación PATHWAY HER-2/neu (CB11) IHC para los tres anatomatólogos.

Puntuación de HER2	Puntuación de PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody		
	Investigador 1	Investigador 2	Investigador 3
3+	72	75	73
2+	22	22	18
0,1+	80	81	87
Total	174	178	178

Nota: cuando los tres anatomatólogos evaluaron un total de 1 muestra, ésta varió en más de un nivel de grado (es decir, de 1 a 3+).

Muestra 1: Un anatomatólogo puntuó 1+, el segundo puntuó 2+ y el tercero puntuó 3+.

**Tabla 17.** Cohorte 2: puntuación de clone 4B5 de los tres anatomopatólogos.

Puntuación de HER2	Puntuación de clone 4B5		
	Investigador 4	Investigador 5	Investigador 6
3	59	65	50
2	30	28	39
0,1	52	51	55
Total	141	144	144

Nota: un total de 6 muestras variaron en más de un grado (es decir, 0, 3+) cuando las evaluaron los tres anatomopatólogos.

Muestra 1: Un anatomopatólogo puntuó 0, el segundo puntuó 0 y el tercero puntuó 2+.

Muestra 2: Un anatomopatólogo puntuó 1+, el segundo puntuó 1+ y el tercero puntuó con un 3+.

Muestra 3: Un anatomopatólogo puntuó 0, el segundo puntuó 2+ y el tercero puntuó 2+.

Muestras 4 y 5: Un anatomopatólogo puntuó 0, el segundo puntuó 2+ y el tercero puntuó 2+.

Muestra 6: Un anatomopatólogo puntuó 0, el segundo puntuó 3+ y el tercero puntuó 3+.

**Tabla 18.** Cohorte 2: Puntuación PATHWAY HER-2/neu (CB11) IHC para los tres anatomopatólogos.

Puntuación de HER2	Puntuación de PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody		
	Investigador 4	Investigador 5	Investigador 6
3+	31	37	28
2+	38	32	47
0,1+	75	75	69
Total	144	144	144

Nota: cuando los tres anatomopatólogos evaluaron un total de 8 muestras, éstas variaron en más de un nivel de grado (es decir, 0, 2+).

Muestras 1-6: Un anatomopatólogo puntuó 0, el segundo puntuó 1+ y el tercero puntuó 2+.

Muestras 7 y 8: Un anatomopatólogo puntuó 0, el segundo puntuó 2+ y el tercero puntuó 2+.

A continuación se muestra una tabulación de los intervalos de concordancia porcentual por parejas de anatomopatólogos (tres parejas para cada cohorte).

**Tabla 19.** Rangos de concordancia 2 x 2\* de los tres anatomopatólogos.

	Concordancia porcentual global	Porcentaje de concordancia positiva	Concordancia porcentual negativa
<b>Clone 4B5 frente a PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody</b>			
Cohorte 1	82,6 - 86,9 %	97,3 - 100,0 %	68,0 % - 75,4 %
Cohorte 2	88,2 - 95,5 %	87,6 - 95,6 %	86,1 - 95,4 %
<b>Clone 4B5 frente a FISH</b>			
Cohorte 1	86,8 - 88,2 %	90,7 - 94,2 %	79,3 - 81,0 %
Cohorte 2	87,4 - 89,9 %	88,2 - 90,0 %	84,5 - 91,8 %
<b>PATHWAY HER-2/neu (CB11) mouse monoclonal antibody frente a FISH</b>			
Cohorte 1	79,9 - 84,0 %	73,3 - 80,2 %	89,7 - 89,7 %
Cohorte 2	84,8 % - 93,3 %	86,7 - 92,5 %	82,7 - 94,1 %

\* 0, 1+ = Negativa. 2+ y 3+ = Positiva.

**Conclusión:** Los datos de estos estudios indicaron que el anticuerpo principal de clone 4B5 era específico y reproducible en su capacidad de localizar la tinción de la membrana adecuada para tejidos normales y neoplásicos. Los datos de comparación del método demostraron que el anticuerpo principal de clone 4B5 está indicado como ayuda para la evaluación de pacientes con cáncer de mama para quienes se está valorando el tratamiento con Herceptin.

**9. Características de rendimiento del instrumento BenchMark ULTRA utilizando MIEW DAB Detection Kit o ultraView Universal DAB Detection Kit:**

Reproducibilidad entre días y tinción entre laboratorios con el instrumento BenchMark ULTRA: tres laboratorios, de instituciones diferentes en Estados Unidos, participaron en el estudio de reproducibilidad entre laboratorios. Portaobjetos con secciones FFPE de 48 casos de carcinoma de mama invasivo [12 de cada categoría de agrupamiento HER2 (0,1+, 2+, 3+)] y 1 par de PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides por cada 12 tinciones se distribuyeron a centros de pruebas para tinción en un instrumento BenchMark ULTRA utilizando el protocolo de tinción recomendado y ultraView Universal DAB Detection Kit. Los controles incluían los PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides y un segundo portaobjetos de cada caso teñido con un reactivo Ig negativo. Los anatomopatólogos, que desconocían el estado del caso, evaluaron los portaobjetos y facilitaron una puntuación clínica (es decir, 0, 1+, 2+, 3+). Los resultados se analizaron con Ventana. Utilizando la nomenclatura estándar para tablas 2 x 2, se calculó la concordancia positiva media (APA) en los diferentes centros como  $2a/(2a+b+c)$  y la concordancia negativa media (ANA) como  $2d/(2d+b+c)$ . En todos los centros, la concordancia positiva media entre centros basada en la evaluación clínica (positiva, negativa) fue del 90,0 % (108/120) y la concordancia negativa media fue del 92,9 % (156/168). Para las comparaciones por parejas de los centros, la concordancia positiva media se calculó como  $a/(a+c)$  y la concordancia negativa media se calculó como  $d/(b+d)$ . Los índices de la concordancia positiva media entre centros fueron 93,0 % (40/43), 87,2 % (34/39) y 89,5 % (34/38) para el centro A frente al centro B, el centro A frente al centro C y el centro B frente al centro C, respectivamente. Los índices de concordancia negativa media entre centros fueron 94,3 % (50/53), 91,2 % (52/57) y 93,1 % (54/58) para el centro A frente al centro B, el centro A frente al centro C y el centro B frente al centro C, respectivamente.

Las siguientes tablas son presentaciones 3 x 3 de resultados para cada lector basadas en la puntuación clínica donde se separaron 2+ y 3+.

**Tabla 20.** Análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre laboratorios del centro A frente al centro B: clone 4B5 con instrumento BenchMark ULTRA con ultraView Universal DAB Detection Kit.

Centro A	Centro B			Total
	3+	2+	0,1+	
3+	12	2	0	14
2+	0	6	2	8
0,1+	0	1	25	26
Total	12	9	27	48
<b>Concordancia porcentual global (OPA): n/N (%)</b>				43/48 (89,6)

**Tabla 21.** Análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre laboratorios del centro A frente al centro C: clone 4B5 con instrumento BenchMark ULTRA con ultraView Universal DAB Detection Kit.

Centro A	Centro C			Total
	3+	2+	0,1+	
3+	12	1	1	14
2+	0	4	4	8
0,1+	0	0	26	26
Total	12	5	31	48
<b>Concordancia porcentual global (OPA): n/N (%)</b>				42/48 (87,5)

**Tabla 22.** Análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre laboratorios del centro B frente al centro C: clone 4B5 con instrumento BenchMark ULTRA con *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

	Centro C			
Centro B	3+	2+	0,1+	Total
3+	12	0	0	12
2+	0	5	4	9
0,1+	0	0	27	27
Total	12	5	31	48
<b>Concordancia porcentual global (OPA): n/N ( % )</b> 44/48 (91,7)				

**10. BenchMark ULTRA reproducibilidad de tinción entre días con el instrumento:**

La parte de reproducibilidad entre días (IDR) del estudio incluía 12 casos con una distribución prevista de aproximadamente tres (3) casos en cada puntuación clínica (0, 1+, 2+, 3+). En total, los cinco análisis llevados a cabo con el instrumento BenchMark ULTRA en una sola institución (Centro C) que realizaron la parte de IDR del estudio se realizaron durante un mínimo de 20 días, de modo que ningún par de días de tinción fueron consecutivos. Los índices de APA y ANA de IDR basados en la evaluación clínica de la tinción de clone 4B5 en el Centro C todos los días fueron ambos del 100 %. Los índices de concordancia porcentual global para las comparaciones entre días basadas en las puntuaciones clínicas fueron del 100 % para cada una de las comparaciones entre un día y otro y para todos los días combinados.

**11. Estudio de comparación de la plataforma de tinción BenchMark ULTRA con las plataformas de tinción BenchMark XT:**

dos laboratorios de tinción y tres centros de lectura de Estados Unidos participaron en el estudio comparativo de plataformas. Se distribuyeron aleatoriamente portaobjetos con secciones FFPE de 280 casos de carcinoma de mama invasivo [aproximadamente 70 casos de cada categoría de agrupamiento HER2 (0,1+, 2+, 3+)] a dos centros de tinción (140 casos a cada uno) para la tinción con un instrumento BenchMark XT y un instrumento BenchMark ULTRA utilizando los protocolos de tinción recomendados respectivos y *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Los controles incluían los PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides y un segundo portaobjetos de cada caso teñido con un reactivo Ig negativo. Los casos teñidos del Centro 1 y el Centro 2 se dividieron en cuatro conjuntos de portaobjetos y se proporcionaron, de uno en uno, a tres lectores cualificados diferentes (patólogos), un lector en el Centro 1, uno en el Centro 2 y uno en el Centro 3. Los anatomopatólogos, que desconocían el estado del caso y la plataforma de tinción, evaluaron los cuatro conjuntos de portaobjetos y facilitaron una puntuación clínica (es decir, 0,1+, 2+, 3+) para cada caso. Los resultados se analizaron con Ventana. Los índices de porcentaje de concordancia positiva (y límite inferior de los intervalos de confianza bilaterales del 95 %) para la tinción del anticuerpo de clone 4B5 con el instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark XT basados en la evaluación clínica (positiva, negativa) fueron del 91,6 % (85,9), el 91,2 % (85,3) y el 94,9 % (89,3) para el Lector A, B y C, respectivamente. Los índices de porcentaje de concordancia negativa (NPA) (y límite inferior de los intervalos de confianza bilaterales del 95 %) para la tinción del anticuerpo de clone 4B5 con el instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark XT basados en la evaluación clínica (positiva, negativa) fueron del 91,9 (85,8), 93,8 % (88,3) y 99,3 (96,3) para el Lector A, B y C, respectivamente. El porcentaje de concordancia global entre la tinción de clone 4B5 utilizando el instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark XT basado en el análisis 2 x 2 de la evaluación clínica (positiva, negativa) fue del 91,8 %, el 92,5 % y el 97,4 % según el Lector A, B y C, respectivamente. La presentación 3 x 3 de los índices de concordancia entre plataformas para cada lector basados en la puntuación clínica (0/1+, 2+, 3+) se muestra en las siguientes tablas:

**Tabla 23.** Análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre plataformas del instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark XT. Lector A.

Instrumento BenchMark ULTRA	Instrumento BenchMark XT			
Lector A	3+	2+	0,1+	Total
3+	84	11	1	96
2+	8	28	9	45
0,1+	4	8	114	126
Total	96	47	124	267
<b>Concordancia porcentual global - n/N (%) (IC del 95 %)</b> 226/267 (84,6) (79,8-88,5)				

**Tabla 24.** Análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre plataformas del instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark XT: Lector B.

Instrumento BenchMark ULTRA	Instrumento BenchMark XT			
Lector B	3+	2+	0,1+	Total
3+	64	2	1	67
2+	3	56	7	66
0,1+	2	10	122	134
Total	69	68	130	267
<b>Concordancia porcentual global - n/N (%) (IC del 95 %)</b> 242/267 (90,6) (86,5-93,6)				

**Tabla 25.** Análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre plataformas del instrumento BenchMark ULTRA frente al instrumento BenchMark XT: Lector C.

Instrumento BenchMark ULTRA	Instrumento BenchMark XT			
Lector C	3+	2+	0,1+	Total
3+	64	1	0	65
2+	2	45	1	48
0,1+	0	6	148	154
Total	66	52	149	267
<b>Concordancia porcentual global - n/N (%) (IC del 95 %)</b> 257/267 (96,3) (93,2-98,0)				

**12. Reproducibilidad entre anatomopatólogos de las muestras de estudios comparativos de plataformas:**

Se calcularon los índices de concordancia positiva y negativa con intervalos de confianza con una puntuación bilateral del 95 % para las seis posibles comparaciones por pares entre lectores para cada plataforma.

Para el instrumento BenchMark ULTRA, las tasas de concordancia porcentual positiva para el lector A frente al B, el A frente al C, el B frente al C, el B frente al A, el C frente al A y el C frente al B fueron del 94,7 % (126/133), 98,2 % (111/113), 98,2 % (111/113), 89,4 % (126/141), 78,7 % (111/141) y 83,5 % (111/133), respectivamente. Los índices de concordancia porcentual negativa para el lector A frente al B, el A frente al C, el B frente al C, el B frente al A, el C frente al A y el C frente al B fueron del 88,8 % (119/134), 80,5 % (124/154), 85,7 % (132/154), 94,4 % (119/126), 98,4 % (124/126) y 98,5 % (132/134), respectivamente. El índice de porcentaje de concordancia global más alto fue entre el lector A y el lector B (91,8 %) y la más baja fue entre el lector B y el lector C (91,0 %) y entre el lector A y el lector C (88,8 %).

Para el instrumento BenchMark XT, las tasas de concordancia porcentual positiva para el lector A frente al B, el A frente al C, el B frente al C, el B frente al A, el C frente al A y el C frente al B fueron del 94,9 % (130/137), 98,3 % (116/118), 98,3 % (116/118), 90,9 % (130/143), 81,1 % (116/143) y 84,7 % (116/137), respectivamente. Los índices de porcentaje de concordancia negativa para el Lector A frente a B, A frente a C, B frente a C, B frente a A, C frente a A y C frente a B fueron del 90,0 % (117/130), el 81,9 % (122/149), el 85,9 % (128/149), el 94,4 % (117/124), el 98,4 % (122/124) y el 98,4 % (128/130), respectivamente. El índice de porcentaje de concordancia global más alto fue entre el lector A y el lector B (92,5 %) y la más baja fue entre el lector B y el lector C (91,4 %) y entre el lector A y el lector C (89,1 %).

### 13. Estudio comparativo de MIEW DAB Detection Kit con ultraView Universal DAB Detection Kit:

Se utilizó la cohorte de 140 casos fijados con formol e incluidos en parafina de carcinoma de mama invasivo del Centro 1 [aproximadamente 35 casos de cada categoría de agrupamiento HER-2 (0,1+, 2+, 3+)] en un estudio de comparación de MIEW DAB Detection Kit frente a ultraView Universal DAB Detection Kit durante la tinción con clone 4B5 en el instrumento BenchMark ULTRA. Un único laboratorio de tinción y tres centros de lectura de Estados Unidos participaron en el estudio comparativo de detección. Para la tinción del anticuerpo de clone 4B5 en el instrumento, BenchMark ULTRA los índices de concordancia porcentual positiva entre los resultados obtenidos utilizando los métodos de MIEW DAB Detection Kit y ultraView Universal DAB Detection Kit basados en evaluaciones clínicas (positiva, negativa) fueron del 95,8 % (68/71), el 96,9 % (63/65) y el 96,5 % (55/57) para los Lectores A, B y C respectivamente, y los índices de concordancia porcentual negativa entre los métodos de detección fueron del 90,8 % (59/65), el 91,5 % (65/71) y el 97,5 % (77/79) para los Lectores A, B y C respectivamente. Los índices de porcentaje de concordancia global entre kits de detección fueron del 93,4 % (127/136), el 94,1 % (128/136) y el 97,1 % (132/136) para los Lectores A, B y C respectivamente. La presentación 3 x 3 de los índices de concordancia de comparación de detección para cada lector basados en la puntuación clínica (0/1+, 2+, 3+) se muestra en las siguientes tablas:

**Tabla 26.** Lector A, análisis 3 x 3 de los índices de concordancia de tinción con MIEW DAB Detection Kit frente a ultraView Universal DAB Detection Kit - Tinción de clone 4B5 en el instrumento BenchMark ULTRA.

MIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Lector A	3+	2+	0,1+	Total
3+	43	5	0	48
2+	3	17	6	26
0,1+	0	3	59	62
Total	46	25	65	136
<b>Concordancia porcentual global - n/N (%) (IC del 95 %)</b>				
119/136 (87,5) (80,9-92,0)				

**Tabla 27.** Lector B, análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre la tinción con MIEW DAB Detection Kit frente a ultraView Universal DAB Detection Kit - Tinción de clone 4B5 en el instrumento BenchMark ULTRA.

MIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Lector B	3+	2+	0,1+	Total
3+	32	0	0	32
2+	0	31	6	37
0,1+	1	1	65	67
Total	33	32	71	136
<b>Concordancia porcentual global - n/N (%) (IC del 95 %)</b>				
128/136 (94,1) (88,8-97,0)				

**Tabla 28.** Lector C, análisis 3 x 3 de los índices de concordancia entre la tinción con MIEW DAB Detection Kit frente a ultraView Universal DAB Detection Kit - Tinción de clone 4B5 en el instrumento BenchMark ULTRA.

MIEW DAB Detection Kit	ultraView Universal DAB Detection Kit			
Lector C	3+	2+	0,1+	Total
3+	32	0	0	32
2+	0	23	2	25
0,1+	0	2	77	79
Total	32	25	79	136
<b>Concordancia porcentual global - n/N (%) (IC del 95 %)</b>				
132/136 (97,1) (92,7-98,9)				

### 14. Reproducibilidad entre anatomopatólogos de las muestras del estudio comparativo de detección:

se calcularon los índices de concordancia positivos y negativos con intervalos de confianza del 95 % bilaterales para las posibles comparaciones por parejas entre lectores para cada método.

Para MIEW DAB Detection Kit, los índices de porcentaje de concordancia positiva para el Lector A frente a B, A frente a C, B frente a C, B frente a A, C frente a A y C frente a B fueron del 100,0 % (69/69), el 98,2 % (56/57), el 96,5 % (55/57), el 93,2 % (69/74), el 75,7 % (56/74) y el 79,7 % (55/69), respectivamente. Los índices de concordancia porcentual negativa para el lector A frente al B, el A frente al C, el B frente al C, el B frente al A, el C frente al A y el C frente al B fueron del 92,5 % (62/67), 77,2 % (61/79), 82,3 % (65/79), 100,0 % (62/62), 98,4 % (61/62) y 97,0 % (65/67), respectivamente. El índice de concordancia global más alto fue entre el lector A y el lector B (96,3 %) y, el más bajo, entre el lector A y el lector C (86,0 %) y entre el lector B y el lector C (88,2 %).

Para ultraView Universal DAB Detection Kit, los índices de porcentaje de concordancia positiva para el Lector A frente a B, A frente a C, B frente a C, B frente a A, C frente a A y FC frente a B fueron del 96,9 % (63/65), el 98,2 % (56/57), el 98,2 % (56/57), el 88,7 % (63/71), el 78,9 % (56/71) y el 86,2 % (56/65) respectivamente. Los índices de porcentaje de concordancia negativa para el Lector A frente a B, A frente a C, B frente a C, B frente a A, C frente a A y C frente a B fueron del 88,7 % (63/71), el 81,0 % (64/79), el 88,6 % (70/79), el 96,9 % (63/65), el 98,5 % (64/65) y el 98,6 % (70/71), respectivamente. Los índices de concordancia global fueron similares para cada par de lectores: 92,6 % (126/136), 88,2 % (120/136) y 92,6 % (126/136) para el lector A frente al B, el lector A frente al C, y el lector B frente al C, respectivamente.

### Características de rendimiento en casos gástricos

- La reproducibilidad intraanálisis con el instrumento BenchMark XT se llevó a cabo en cinco análisis realizados durante un periodo de 5 días (no consecutivos). Cinco portaobjetos con tres casos de tejido gástrico con puntuaciones de 0, 1+, 2+ y 3+ de expresión del HER2 demostraron una concordancia del 100 % dentro del valor positivo/negativo para cada tejido.
- La reproducibilidad entre análisis con el instrumento BenchMark XT se llevó a cabo con 28 portaobjetos con tres casos de tejido gástrico con puntuaciones de 0,1+, 2+ y 3+ de expresión de la HER2. Todos los casos tuvieron una puntuación equivalente dentro del valor positivo/negativo para cada tipo de tejido. La reproducibilidad entre plataformas se llevó a cabo en tres instrumentos BenchMark XT. En estos análisis, los 30 portaobjetos de cada uno de los dos bloques de diversos tejidos diferentes con tres casos de tejido gástrico con puntuaciones de 0, 1+, 2+ y 3+ de expresión de la HER2 obtuvieron una puntuación equivalente dentro del valor positivo/negativo para cada tipo de tejido.

La reproducibilidad entre plataformas se probó en tres instrumentos BenchMark ULTRA. En estos análisis, los 15 portaobjetos de un bloque de diversos tejidos obtuvieron puntuaciones equivalentes dentro del valor positivo/negativo para cada tipo de tejido.

Farm. ROBERTA MILE MAZZA  
 PRODUCIOS ROCHE S.A.C.e.I.  
 División Diagnóstico  
 DT & APODERADA LEGAL

La reproducibilidad entre plataformas se probó en tres instrumentos BenchMark XT y tres instrumentos BenchMark ULTRA. En estos análisis, los 30 portaobjetos de un bloque de diversos tejidos obtuvieron puntuaciones equivalentes dentro del valor positivo/negativo para cada tipo de tejido.

### 3. Comparación de *VIEW DAB Detection Kit* y *ultraView Universal DAB Detection Kit* utilizando casos gástricos:

Se utilizó clon 4B5 para realizar pruebas de comparación del kit de detección en dos instrumentos (instrumento BenchMark XT e instrumento BenchMark ULTRA), utilizando *VIEW DAB Detection Kit* y *ultraView Universal DAB Detection Kit*. Se utilizaron 210 casos de tejidos como parte de las pruebas. Los portaobjetos tintados se evaluaron para determinar su puntuación clínica positiva/negativa.

Los índices de aceptabilidad de morfología y contraste fueron del 100 % para los kits de detección y los instrumentos. Las comparaciones directas para la evaluación clínica positiva y negativa entre kits de detección para cada instrumento se presentan en las siguientes tablas.

**Tabla 29.** Evaluación clínica de *ultraView Universal DAB Detection Kit* frente a *VIEW DAB Detection Kit* con el instrumento BenchMark XT.

<i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	<i>VIEW DAB Detection Kit</i>		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	21	0	21
Negativo	0	189	189
Total	21	189	210
	n/N	%	
Concordancia porcentual positiva	21/21	100	
Concordancia porcentual negativa	189/189	100	
Concordancia porcentual global	210/210	100	

**Tabla 30.** Comparación de la evaluación clínica en las plataformas de tinción BenchMark XT y BenchMark ULTRA utilizando *ultraView Universal DAB Detection Kit*.

Plataforma de tinción de BenchMark XT con <i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>	Plataforma de tinción de BenchMark ULTRA con <i>ultraView Universal DAB Detection Kit</i>		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	20	1	21
Negativo	0	189	189
Total	20	190	210
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual positiva	20/20	100 (83,9-100)	
Concordancia porcentual negativa	189/190	99,5 (97,1-99,9)	
Concordancia porcentual global	209/210	99,5 (97,4-99,9)	

### 4. Comparación de Clon 4B5 con HercepTest en el cáncer gástrico humano:

Se llevó a cabo un estudio ciego, externo para comparar el comportamiento de la tinción de clon 4B5 en el instrumento BenchMark XT con el de Dako HercepTest. Se analizaron aproximadamente 239 casos de cáncer gástrico para el estudio junto con 159 casos del laboratorio TARGOS, del ensayo ToGA que investigaron el estado de la HER2 y el resultado clínico en pacientes tratados con Herceptin. El laboratorio tinto los casos con clon 4B5 y HercepTest. Un anatomopatólogo

puntuó los casos en una escala de 0/1+, 2+ y 3+. Los casos positivos obtienen las puntuaciones de 2+ y 3+, mientras que los casos negativos se puntúan con 0 y 1+.

Las tablas 29 y 30 incluyen los porcentajes de concordancia entre clon 4B5 y HercepTest, detallados por origen del tejido. La tabla 29 compara los resultados positivos frente a los negativos, mientras que la tabla 30 utiliza una escala inmunohistoquímica (IHC) de tres categorías de 0/1+, 2+ y 3+. El índice de concordancia global para todos los tejidos en las tablas 28 y 29 es del 91,0 % y el 95,3 % respectivamente.

**Tabla 31.** Índices de concordancia porcentual e IC del 95 % para las puntuaciones de clon 4B5 (IHC) frente a HercepTest detalladas por origen del tejido. Ambas pruebas de IHC se puntuaron como positivas frente a negativas (0/1+ frente a 2+/3+).

n	Porcentaje de concordancia global (IC del 95 %)	n	Porcentaje de concordancia positiva (IC del 95 %)	n	Porcentaje de concordancia negativa (IC del 95 %)
362/398	91,0 (87,7-93,4)	46/56	82,1 (70,2-90,0)	316/342	92,4 (89,1-94,8)

**Tabla 32.** Porcentaje de concordancia global e IC del 95 % para las puntuaciones de clon 4B5 (IHC) frente a HercepTest detalladas por origen del tejido. Las pruebas de IHC se puntuaron como 0/1+, 2+ ó 3+.

Origen del tejido	n	Porcentaje de concordancia global (IC del 95 %)
TMA y ToGA	355/398	89,2 (85,8-91,9)

### 5. Reproducibilidad entre laboratorios de clon 4B5:

El estudio se llevó a cabo en tres centros de pruebas. Las muestras se seleccionaron para su inclusión en el estudio basándose en la puntuación clínica de IHC de clon 4B5, de modo que hubiera un número aproximadamente igual de casos positivos (3+) y negativos (0, 1+). Además, se estudiaron hasta cuatro casos de cáncer gástrico calificados con una puntuación de 2+.

Los tres centros utilizaron una plataforma BenchMark XT y una plataforma BenchMark ULTRA para llevar a cabo cuatro tinciones por plataforma. Los casos se aleatorizaron para la tinción utilizando un procedimiento de aleatorización estratificado que asignó los casos de modo que cada análisis incluyera casos que representaran a todas las categorías de puntuación para HER2 en el cáncer gástrico. Los análisis de cada instrumento de cada centro incluyeron los mismos casos. En cada centro, se tinto un portaobjetos de cada caso con clon 4B5 y otro portaobjetos del mismo caso se tinto con CONFIRM Negative Control Rabbit Ig en la plataforma BenchMark ULTRA. Se tinto de forma similar un segundo par de portaobjetos del mismo caso en la plataforma BenchMark XT de cada centro. Los portaobjetos de los casos fueron puntuados por un lector cualificado en cada centro sin conocer las puntuaciones clínicas de IHC previamente determinadas para cada muestra.

La concordancia global para todos los casos evaluables fue del 100 % para las tres comparaciones centro a centro tanto en la plataforma BenchMark ULTRA como en la plataforma BenchMark XT. La concordancia global entre la plataforma BenchMark ULTRA y la plataforma BenchMark XT para los casos evaluables fue del 100 % en los tres centros. Los índices de aceptabilidad del contraste y la morfología de todos los casos fue del 100 % para ambas plataformas de los Centros A y C y >95 % para ambas plataformas en el Centro B. Véanse las tablas a continuación.

Farm. ROBERTA MILLE MAZZA  
 PRODUCIOS ROCHE S.A. de I.  
 División Diagnóstico  
 DT & APODERADA LEGAL

**Tabla 33.** Concordancia de la evaluación clínica global entre Centros: todos los casos evaluables.

Instrumento BenchMark ULTRA	Concordancia porcentual global
Centro A frente a Centro B: n/N (%) (IC del 95 %)	30/30 (100 %) (88,6 - 100)
Centro A frente a Centro C: n/N (%) (IC del 95 %)	30/30 (100 %) (88,6 - 100)
Centro B frente a Centro C: n/N (%) (IC del 95 %)	30/30 (100 %) (88,6 - 100)
Instrumento BenchMark XT	Concordancia porcentual global
Centro A frente a Centro B: n/N (%) (IC del 95 %)	31/31 (100 %) (89,0 - 100,0)
Centro A frente a Centro C: n/N (%) (IC del 95 %)	31/31 (100 %) (89,0 - 100,0)
Centro B frente a Centro C: n/N (%) (IC del 95 %)	31/31 (100 %) (89,0 - 100,0)

**Tabla 34.** Concordancia de la evaluación clínica global entre plataformas: todos los casos evaluables.

Instrumento BenchMark ULTRA frente a instrumento BenchMark XT	Concordancia porcentual global
Centro A: n/N (%) (IC del 95 %)	40/40 (100 %) (91,2 - 100)
Centro B: n/N (%) (IC del 95 %)	34/34 (100 %) (89,8 - 100)
Centro C: n/N (%) (IC del 95 %)	32/32 (100 %) (89,3 - 100)

**Tabla 35.** Índices de aceptabilidad de la tinción de fondo y la morfología: todos los casos.

Instrumento BenchMark ULTRA	Centro A	Centro B	Centro C
Índices de aceptabilidad de la morfología	44/44 (100 %)	43/44 (97,7 %)	44/44 (100 %)
Índices de aceptabilidad del fondo	44/44 (100 %)	42/44 (95,5 %)	44/44 (100 %)
Instrumento BenchMark XT	Centro A	Centro B	Centro C
Índices de aceptabilidad de la morfología	44/44 (100 %)	43/44 (97,7 %)	44/44 (100 %)
Índices de aceptabilidad del fondo	44/44 (100 %)	43/44 (97,7 %)	44/44 (100 %)

**6. Estudio de comparación de las plataformas de tinción BenchMark y BenchMark GX con la plataforma de tinción BenchMark XT:**

Se tiñeron portaobjetos con cortes de 3 micromatrices tisulares (TMA) con casos de carcinoma gástrico fijados con formol e incluidos en parafina [aproximadamente 50 casos por TMA] en los instrumentos BenchMark XT, BenchMark y BenchMark GX utilizando los protocolos de tinción recomendados respectivos para *ultraView* Universal DAB Detection Kit y *VIEW* DAB Detection Kit. Los controles incluyeron PATHWAY HER-2 4 in 1 Control Slides y un segundo portaobjetos de cada TMA tintada con reactivo Ig negativo. Los portaobjetos tintados fueron puntuados por un lector (patólogo).

Los índices de concordancia global (y límite inferior de los intervalos de confianza bilaterales del 95 %) para la tinción del anticuerpo de clon 4B5 basados en la evaluación clínica (positiva, negativa) fueron los siguientes: Instrumento BenchMark frente a instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit 98,0 % (94,2-99,3), instrumento BenchMark GX frente a instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit 97,4 % (93,6-99,0), instrumento

BenchMark frente a instrumento BenchMark XT con *VIEW* DAB Detection Kit 96,6 % (92,7-98,4), instrumento BenchMark GX frente a instrumento BenchMark XT con *VIEW* DAB Detection Kit 95,9 % (91,8-98,0).

Los índices de concordancia positiva (y límite inferior de los dos intervalos de confianza bilaterales del 95 %) para la tinción del anticuerpo de clon 4B5 basados en la evaluación clínica (positiva, negativa) fueron los siguientes: Instrumento BenchMark frente a instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit 91,7 % (64,4-98,5), instrumento BenchMark GX frente a instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit 78,6 % (52,4-92,4), instrumento BenchMark frente a instrumento BenchMark XT con *VIEW* DAB Detection Kit 80,0 % (54,8-93,0), instrumento BenchMark GX frente a instrumento BenchMark XT con *VIEW* DAB Detection Kit 73,3 % (48,0-89,1).

Los índices de concordancia negativa (y límite inferior de los intervalos de confianza bilaterales del 95 %) para la tinción del anticuerpo de clon 4B5 basados en la evaluación clínica (positiva, negativa) fueron los siguientes: Instrumento BenchMark frente a instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit 98,5 % (94,8-99,6), instrumento BenchMark GX frente a instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit 99,3 % (96,1-99,9), instrumento BenchMark frente a instrumento BenchMark XT con *VIEW* DAB Detection Kit 98,1 % (94,6-99,4), instrumento BenchMark GX frente a instrumento BenchMark XT con *VIEW* DAB Detection Kit 98,1 % (94,5-99,3). La presentación 2 x 2 de los índices de concordancia para cada comparación basada en la evaluación clínica (positiva, negativa) se muestra en las siguientes tablas.

**Tabla 36.** Índices de concordancia entre plataformas del instrumento BenchMark frente al instrumento BenchMark XT con el análisis 2 x 2 *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

Clon 4B5 con <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit			
Instrumento BenchMark	Instrumento BenchMark XT		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	11	2	13
Negativo	1	133	134
Total	12	135	147
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual global	144/147	98,0 % (94,2-99,3)	
Concordancia porcentual positiva	11/12	91,7 % (64,6-98,5)	
Concordancia porcentual negativa	133/135	98,5 % (94,8-99,6)	

**Tabla 37.** Índices de concordancia entre plataformas del instrumento BenchMark GX frente al instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit, análisis 2 x 2.

Clon 4B5 con <i>ultraView</i> Universal DAB Detection Kit			
Instrumento BenchMark GX	Instrumento BenchMark XT		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	11	1	12
Negativo	3	140	143
Total	14	141	155
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual global	151/155	97,4 % (93,6-99,0)	
Concordancia porcentual positiva	11/14	78,6 % (52,4-92,4)	
Concordancia porcentual negativa	140/141	99,3 % (96,1-99,9)	

**Tabla 38.** Índices de concordancia entre plataformas del instrumento BenchMark frente al instrumento BenchMark XT con /VIEW DAB Detection Kit, análisis 2 x 2.

Clon 4B5 con /VIEW DAB Detection Kit			
Instrumento BenchMark	Instrumento BenchMark XT		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	12	3	15
Negativo	3	156	159
Total	15	159	174
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual global	168/174	96,6 % (92,7-98,4)	
Concordancia porcentual positiva	12/15	80,0 % (54,8-93,0)	
Concordancia porcentual negativa	156/159	98,1 % (94,6-99,4)	

**Tabla 39.** Índices de concordancia entre plataformas del instrumento BenchMark GX frente al instrumento BenchMark XT con /VIEW DAB Detection Kit, análisis 2 x 2.

Clon 4B5 con /VIEW DAB Detection Kit			
Instrumento BenchMark GX	Instrumento BenchMark XT		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	11	3	14
Negativo	4	154	158
Total	15	157	172
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual global	165/172	95,9 % (91,8-98,0)	
Concordancia porcentual positiva	11/15	73,3 % (48,0-89,1)	
Concordancia porcentual negativa	154/157	98,1 % (94,5-99,3)	

Conclusión: Los datos de estos estudios indican que el VENTANA HER2 (4B5) antibody fue específico y reproducible en su capacidad de tinar correctamente tejidos neoplásicos gástricos y de mama. Los datos de comparación del método y la reproducibilidad entre laboratorios demostraron que el VENTANA HER2 (4B5) antibody está indicado como ayuda en la evaluación de pacientes con cáncer gástrico y de mama para quienes se valore el tratamiento con Herceptin.

**Características de rendimiento – PERJETA y KADCYLA**

HER2 Mama - Estudio comparativo de métodos con ensayo de selección de estudios de PERJETA y KADCYLA en el carcinoma de mama.

La equivalencia en ensayos de selección para un estudio fundamental de PERJETA y otro de KADCYLA se determinó mediante la tinción de muestras de prueba con el ensayo VENTANA anti-HER2/neu (4B5) antibody Rabbit Monoclonal Primary Antibody. 2753 muestras evaluadas para un ensayo con PERJETA y 99 muestras evaluadas para un ensayo con KADCYLA se tiñeron con el anticuerpo anti-HER2/neu (4B5) VENTANA. Se determinaron los índices de concordancia porcentual positiva (PPA), negativa (NPA) y global (OPA). El IC del 95 % (intervalo de confianza del 95 % bilateral) se calculó mediante el método de puntuación.

**Tabla 40.** Concordancia de Clon 4B5 y los ensayos Dako en el estado de HER2 para todos los sujetos evaluables para HER2. Los sujetos evaluables para IHC tienen un estado de HER2 positivo o negativo determinado por Clon 4B5 y el ensayo IHC de selección.

Estudio	Puntuación de Clon 4B5	Estado de HER2 de Dako [a] [b]		
		Positivo	Negativo	Total
PERJETA y KADCYLA	3+	2380	15	2395
	2+	140	122	262
	0/1+	38	135	173
	Total	2558	272	2830
	Concordancia porcentual positiva (PPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2380/2558 (93,0) (92,0-94,0)		
Concordancia porcentual negativa (NPA) n/N (%) (IC del 95 %)	257/272 (94,5) (91,1-96,6)			
Concordancia porcentual global (OPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2637/2830 (93,2) (92,2-94,1)			

[a] Positivo = Positivo para IHC y/o ISH amplificado. Negativo = Negativo para IHC y no ISH amplificado o ISH sin amplificar y no positivo para IHC.

[b] IHC: Positivo = 3+; Negativo = 0, 1+, o 2+.

**Tabla 41.** Concordancia de los ensayos Clon 4B5 y Dako en estado de IHC para todos los sujetos evaluables para IHC. Los sujetos evaluables para IHC tienen un estado de HER2 positivo o negativo determinado por Clon 4B5 y el ensayo IHC de selección.

Estudio	Clon 4B5 Estado [a]	Dako HercepTest Estado [a]		
		Positivo	Negativo	Total
PERJETA y KADCYLA	Positivo	2330	65	2395
	Negativo	21	414	435
	Total	2351	479	2830
	Concordancia porcentual positiva (PPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2330/2351 (99,1) (98,6-99,4)		
	Concordancia porcentual negativa (NPA) n/N (%) (IC del 95 %)	414/479 (86,4) (83,1-89,2)		
Concordancia porcentual global (OPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2744/2830 (97,0) (96,3-97,5)			
PERJETA	Positivo	2267	63	2330
	Negativo	10	399	409
	Total	2277	462	2739
	Concordancia porcentual positiva (PPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2267/2277 (99,6) (99,2-99,8)		
	Concordancia porcentual negativa (NPA) n/N (%) (IC del 95 %)	399/462 (86,4) (82,9-89,2)		
Concordancia porcentual global (OPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2666/2739 (97,3) (96,7-97,9)			

Farm. ROBERTA MIGUE MAZZA  
 PRODUCTOS ROCHE S.A. de I.  
 División Diagnóstico  
 DT & APODERADA LEGAL

Estudio	Clone 4B5 Estado [a]	Dako HercepTest Estado [a]		
		Positivo	Negativo	Total
KADCYLA	Positivo	63	2	65
	Negativo	11	15	26
	Total	74	17	91
	Concordancia porcentual positiva (PPA) n/N (%) (IC del 95 %)	63/74 (85,1) (75,3-91,5)		
	Concordancia porcentual negativa (NPA) n/N (%) (IC del 95 %)	15/17 (88,2) (65,7-96,7)		
Concordancia porcentual global (OPA) n/N (%) (IC del 95 %)	78/91 (85,7) (77,1-91,5)			

[a] Positivo = 3+; Negativo = 0, 1+, o 2+.

**Tabla 42.** Concordancia de Clone 4B5 y ensayos Dako en puntuación de IHC para todos los sujetos evaluables para IHC. Los sujetos evaluables para IHC tienen un estado de HER2 positivo o negativo determinado por Clone 4B5 y el ensayo IHC de selección.

Estudio	Puntuación de clone 4B5	Dako Puntuación de HercepTest			
		3+	2+	0/1+	Total
PERJETA y KADCYLA	3+	2330	64	1	2395
	2+	12	235	15	262
	0/1+	9	26	138	173
	Total	2351	325	154	2830
	Concordancia porcentual global (OPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2703/2830 (95,5) (94,7-96,2)			
PERJETA	3+	2267	62	1	2330
	2+	9	226	13	248
	0/1+	1	24	136	161
	Total	2277	312	150	2739
	Concordancia porcentual global (OPA) n/N (%) (IC del 95 %)	2629/2739 (96,0) (95,2-96,7)			
KADCYLA	3+	63	2	0	65
	2+	3	9	2	14
	0/1+	8	2	2	12
	Total	74	13	4	91
	Concordancia porcentual global (OPA) n/N (%) (IC del 95 %)	74/91 (81,3) (72,1-88,0)			

**Tabla 43.** Aceptabilidad de la tinción de Clone 4B5. Sujetos analizados IHC. La tinción IHC se considera aceptable si se puede determinar una puntuación de IHC válida (0, 1+, 2+, o 3+). Entre los motivos de una tinción no aceptable se incluyen control negativo, pérdida de tejido, tumor insuficiente, fondo inaceptable y morfología inaceptable.

Parámetro	PERJETA	KADCYLA	PERJETA y KADCYLA
Número de pruebas de IHC iniciales	2753	99	2852
Aceptabilidad de tinción inicial n/N (%) (IC del 95 %)	2708/2753 (98,4) (97,8, 98,8)	92/99 (92,9) (86,1, 96,5)	2800/2852 (98,2) (97,6, 98,6)
Número de pruebas de IHC repetidas	40	0	40
Aceptabilidad de tinción final n/N (%) (IC del 95 %)	2746/2753 (99,7) (99,5, 99,9)	92/99 (92,9) (86,1, 96,5)	2838/2852 (99,5) (99,2, 99,7)

### Precisión

Se realizaron estudios de precisión del VENTANA HER2 (4B5) antibody para demostrar:

- Precisión entre lotes del anticuerpo.
- Precisión dentro del ensayo y entre días en un instrumento BenchMark XT IHC/ISH.
- Precisión entre instrumentos en los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA IHC/ISH.
- Precisión entre plataformas entre instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT, y BenchMark ULTRA IHC/ISH.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

### SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, deben analizarse otros controles positivos realizados en el mismo instrumento para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo es negativo, se debe comprobar para garantizar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos está correctamente etiquetado, deben analizarse otros controles positivos realizados en el mismo instrumento para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes. Los tejidos pueden haberse recogido, fijado o desparafinado de manera inadecuada. Debe seguirse un procedimiento adecuado para la recogida, la conservación y la fijación.
3. Si no se ha eliminado toda la parafina, es posible que no se produzca tinción. El procedimiento de desparafinado debe repetirse.
4. Si la tinción del anticuerpo específico es demasiado intensa, debe repetirse el análisis con un tiempo de incubación reducido hasta que se consiga la intensidad de tinción deseada.
5. Si los cortes de tejido lavan el portaobjetos, deben comprobarse los mismos para garantizar que tienen carga positiva.
6. Si hay presente tinción nuclear y citoplasmática en la mucosa normal muy cerca del área del tumor en el carcinoma gástrico, y confunde la interpretación de la tinción de la membrana, se deben realizar pruebas del caso mediante ISH.
7. Para la adopción de medidas correctivas, consulte la sección Procedimiento detallado o el manual del usuario del instrumento, o bien póngase en contacto con representante de asistencia local.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Akiyama T, et al. The product of the human c-erbB-2 Gene: A 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. Science. 1986;232: 1644-1646.
2. Kraus MH, Popescu NC, Amsbaugh C, King RC. Overexpression of EGF receptor-related proto-oncogene erbB-2 in human mammary tumor cell lines by different molecular mechanisms. EMBO. 1987; 6: 605-610.

Farm. ROBERTA MILE MAZZA  
 PRODUCTOS ROCHE S.A. de I.  
 División Diagnóstico  
 DT & APODERADA LEGAL

3. Dickson RB, and Lippman ME. Genes, Oncogenes, and Hormones. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1992.
4. Keatings, L. et al. c-erbB-2 oncoprotein expression in mammary and extramammary Paget's disease: an immunohistochemical study. *Histopathology*. 1990;17: 234-247.
5. Herceptin (Trastuzumab) [Package Insert]. EMEA (European Medicines Agency). [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000278/WC500074922.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000278/WC500074922.pdf). Published 01/03/2010. Updated 04/02/2011. Accessed October 2010.
6. Baselga J, Gelmon KA, Verma S, Wardley A, Conte P, Miles D, Bianchi G, Cortes J, McNally VA, Ross GA, Fumoleau P, Gianni L. Phase II trial of pertuzumab and trastuzumab in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer that progressed during prior trastuzumab therapy. *J Clin Oncol*. 2010 Mar 1;28(7):1138-44.
7. Swain SM, Kim SB, Cortés J, Ro J, Semiglazov V, Campane M, Ciruelos E, Ferrero JM, Schneeweiss A, Knott A, Clark E, Ross G, Benyunes MC, Baselga J. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2013 May;14(6):461-71.
8. Hurvitz SA, Dirix L, Kocsis J, Bianchi GV, Lu J, Vinholes J, Guardino E, Song C, Tong B, Ng V, Chu YW, Perez EA. Phase II randomized study of trastuzumab emtansine versus trastuzumab plus docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Mar 20;31(9):1157-63.
9. <http://www.kadcyla.com/hcp>
10. <http://www.perjeta.com/hcp>
11. Roche PC. Immunohistochemical stains for breast cancer. *Mayo Clin Proc*. 1994;69: 57-58.
12. Charpin C, et al. c-erbB-2 oncoprotein detected by automated quantitative immunocytochemistry in breast carcinomas correlates with patients' overall and disease-free survival. *Br J Cancer*. 1997;75: 1667-1673.
13. Corbett IP, et al. NCL-CB11: a new monoclonal antibody recognizing the internal domain of the c-erbB-2 oncogene protein, effective for use on formalin fixed, paraffin-embedded tissue. *J Pathol*. 1990;161:15-25.
14. Nicholson RI, et al. Relationship between EGF-R, c-erbB-2 protein expression and Ki67 immunostaining in breast cancer hormone sensitivity. *Eur J Cancer*. 1993;29A:1018-1023.
15. DePotter CR, et al. The expression of the neu oncogene product in breast lesions and in normal fetal and adult human tissues. *Histopathology*. 1989;15:351-362.
16. Department of Health, Education and Welfare, National Institute of Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ No. 78-127, Current 13. August 16, 1976.
17. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2017.
18. 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.
19. Hoffmann M, et al. *Histopathology*. 2008;52:797-805.
20. Rüschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenard MP, Penault-Llorca F, Nagelmeier I, Schlake W, Höfler H, Kreipe HH. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch*. 2010;457(3):299-307.
21. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem*. 1991;66(4):194-199.
22. 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.
23. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med*. 1983;14:767.
24. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.
25. Thomson TA, Hayes MM, Spinelli JJ, Hiland E, Sawrenko C, and Phillip D, et al. HER-2/neu in breast cancer: interobserver variability and performance of immunohistochemistry with 4 antibodies compared with fluorescent *in situ* hybridization, *Mod Pathol*. 2001;14:1079-86.
26. Kay EW, Walsh CJ, Cassidy M, Curran B, Leader M. C-erbB-2 immunostaining: problems with interpretation. *J Clin Pathol*. 1994;47:816-22.
27. Bilous M, Dowsett M, Hanna W, Isola J, Lebeau A, Moreno A, Penault-Llorca F, Rüschoff J, Tomasic G, van de Vijver M. Current Perspectives on HER2 Testing: A Review of National Testing Guidelines. *Mod Pathol*. 2003;16:173-182.

### PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, *ultraView*, PATHWAY, y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2019 Ventana Medical Systems, Inc. y Roche Diagnostics International, Inc.

### INFORMACIÓN DE CONTACTO



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

[www.ventana.com](http://www.ventana.com)

Farm. ROBERTA MILLE MAZZA  
PRODUCIOS ROCHE S.A. de I.  
Division Diagnostica  
DT & APODERADA LEGAL





República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
Las Malvinas son argentinas

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:**

**Referencia:** ROTULOS E INSTRUCCIONES DE USO PRODUCTOS ROCHE S.A.

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 18 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2022.09.16 21:06:22 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.09.16 21:06:22 -03:00



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
Las Malvinas son argentinas

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** 1-0047-3110-004776-22-5

---

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN  
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-004776-22-5

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

**DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS**

Nombre Comercial: 1) NAVIFY Digital Pathology (uPath cloud); 2) uPath.

Indicación/es de uso:

1-2) El uPath enterprise software (o NAVIFY Digital Pathology) está destinado a la interacción de los usuarios con imágenes digitalizadas de portaobjetos de vidrio a través de las siguientes funcionalidades:

- a. Visualización, gestión e intercambio de imágenes digitalizadas de portaobjetos de vidrio.
- b. Importación de información del Sistema de información de laboratorio (LIS).
- c. Exportación de información al LIS.
- d. Uso como plataforma de algoritmos de análisis de imágenes.

Forma de presentación: No aplica.

Período de vida útil: No aplica.

Nombre del fabricante:

Ventana Medical Systems, Inc.

Lugar de elaboración:

Ventana Medical Systems, Inc. 1910 East Innovation Park Drive. Tucson, Arizona 85755. (USA).

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 740-823 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-004776-22-5

N° Identificador Trámite: 40716

AM