

HER2 检测试剂盒（免疫组化法）说明书

【产品名称】

通用名称：HER2 检测试剂盒（免疫组化法）

英文名称：HercepTest™ for Automated Link Platforms

【包装规格】

50 测试/盒

【预期用途】

用于常规经福尔马林固定、石蜡包埋的乳腺癌组织的组织学评估和 HER2 的过表达的半定量检测。以及经福尔马林固定、石蜡包埋的胃腺癌组织切片，包括胃食管连接处肿瘤中的 HER2 的过表达检测。

该抗体着色为棕色 DAB 染色，定位于细胞膜。是一种半定量免疫组化分析方法，适用于考虑接受曲妥单抗治疗患者的辅助评价方法。

人 HER2 基因（也称之为 ERBB2 或 NEU）编码蛋白通常称之为 HER2 或 p185HER2。HER2 蛋白是一种膜受体酪氨酸激酶，与表皮生长因子受体（EGFR 或 HER1）具有同源性（1-8）。HER2 蛋白通常由各种表皮细胞表达，是一种正常组织成分（8）。

部分乳腺癌患者，HER2 蛋白过表达是其恶性转化及肿瘤进展过程的一部分（9）。乳腺癌细胞的表面过表达 HER2，提示可能是抗体治疗的一个靶点。曲妥单抗是一种人源的单克隆抗体（10），该抗体能够 HER2 蛋白高亲和力结合，而且，体内和体外研究已经证实，这种结合可以抑制过表达 HER2 蛋白的细胞的生长。

大量研究结果表明胃癌中 HER2 蛋白过表达，HER2 基因扩增（31）。无论是 IHC 还是 FISH 检测结果中，大约 20% 的胃癌患者 HER2 阳性。体内和体外前期临床研究表明，曲妥单抗在不同的胃癌模型上被证实有效，从而带动了多项临床研究（31-35）。在一项 III 期 BO18255 临床研究中，ToGA 试验，HER2-阳性患者，以及不能手术治疗局部进展期胃癌，胃部复发性/转移性胃癌，或胃食管连接处癌，这些患者被随机地分配接受 5-FU 或卡培他滨以及顺铂治疗，既可以单独应用也可以与曲妥单抗联合应用。在一项 III 期 BO18255 临床研究中，ToGA 试验，不能手术治疗局部进展期胃癌，胃部复发性/转移性胃癌，或胃食管连接处癌等 HER2-阳性患者被随机地分配接受 5-FU 或卡培他滨以及顺铂治疗，可单独应用也可与曲妥单抗联合应用。联合治疗的患者整体生存率（OS）有显著性差异（36,37）。曲妥单抗是一种人源化的单克隆抗体（10），可与 HER2 蛋白高亲和力结合，体内和体外研究均显示，其可抑制肿瘤细胞的生长（32-35）。

【检测原理】

HercepTest™检测试剂盒包含对常规处理的、石蜡包埋的样本进行两步法免疫组化染色所需要的全部试剂。兔抗人 HER2 蛋白一抗孵育后，该试剂盒采用基于葡聚糖技术的即用型显色试剂。该试剂包含羊抗兔二抗和偶联至葡聚糖多聚体骨架上的辣根过氧化物酶分子。因此，不需要再依次使用连接抗体，人免疫球蛋白显色试剂和胎牛血清之间的交叉反应也因为使用固相吸附材料而消除。依次添加的色素原的酶转换，也使得显色反应发生于抗原所在部位。标本需要复染和封片。反应结果在光学显微镜下观察。质控玻片包含 3 个福尔马林固定、石蜡包埋的人类乳腺癌细胞系，染色强度分别在 0、1+、以及 3+，提供用于对染色结果进行评估。这些细胞的染色强度与其所表达的受体密度一致。

【主要组成成分】

1. 所提供的试剂：代码 SK001

以下所列举的材料足够用于 50 个测试（50 张切片与抗 HER2 蛋白一抗孵育，50 张切片与相应的阴性质控试剂孵育）。测试数是根据每张切片使用 200 微升的试剂，抗原修复液除外。该试剂盒所提供的材料足够用于最多 10 次免疫组化染色。

数量 说明

1×22 mL



过氧化物酶阻断剂。

3%的过氧化氢，含有15 mmol/L的叠氮钠（NaN₃）。

1×12 mL



兔抗人HER2多克隆抗体。

即用型亲和分离的抗体,保存在0.05 mol/L Tris/HCl, 0.1 mol/L NaCl, 1%BSA, 酒石黄(Tartrazin), 专利蓝V(Patentblue V), 15 mmol/L NaN₃, pH 7.2溶液中。

免疫原：合成的HER2蛋白的C-末端（细胞质部分）片段部分，并偶联至血蓝蛋白上。

特异性：HER2蛋白

纯化方法：该抗体采用固相的HER2蛋白肽段亲和分离。

1×22 mL



显色试剂。

辣根过氧化物酶偶联的葡聚糖聚合物和亲和分离的羊抗兔免疫球蛋白。保存在Tris/盐酸缓冲液内,该缓冲液内含1.1% NaCl ,3.5% 聚乙二醇(PEG)及2% BSA, 0.05% 氨基安替比林和0.05% 酪蛋白。

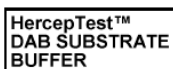
1×10 mL



阴性质控试剂。

与HER2抗体等价蛋白浓度下的正常兔血清免疫球蛋白成分，保存在0.05 mol/L Tris/HCl, 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN₃, pH 7.2, 并含有1%BSA稳定剂的溶液内。

2×22 mL



DAB底物缓冲液。

50 mM咪唑, 1mM N, N'-乙基双 (2-[2-羟基苯基]甘氨酸) (EDHPA), 0.1%乙基苯基聚乙二醇 (Nonidet P-40) , 0.02% 过氧化氢, 0.01% 氯化苯二甲烷铵, pH 7.5。

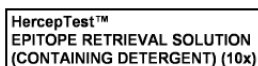
1×1mL



DAB 显色液。

5% 3, 3'-二氨基联苯胺四盐酸显色剂溶液。

3×500mL



抗原修复液（包含清洗剂）（10×）。

0.1 mol/L柠檬酸盐缓冲液，1% 吐温-20，pH 5.7。

2 × 5



质控切片

每张切片包含3个福尔马林固定的、石蜡包埋的乳腺癌细胞系，代表了不同的HER2表达水平：MDA-231 (0)，MDA-175 (1+)，以及SK-BR-3 (3+)。质控切片已经进行了热处理，以便使组织切片能够更好地黏附至玻片上。任何对质控切片的其它热处理均可能影响组织切片与玻片的黏附性能，而影响染色效果。

10 ×
试剂瓶

USER-FILLABLE
REAGENT BOTTLE
12 mL CAPACITY

用户可充填式试剂瓶，12 mL容量。

每瓶可容纳12毫升的试剂。瓶内装有显色液时（也可以参阅试剂制备部分），使用前应该混匀。此瓶以单独的包装袋提供。

提示：所有的试剂配方均专用于本测试。根据指定的方法进行测试，不能进行替换。

2. 必需但未提供的材料

1) **Dako洗脱缓冲液，代码 S3006**

2) 复染：苏木素染色液，如用于Dako公司Automated Link平台的苏木素缓冲液，（代码SK308）

3) 盖玻片

4) 蒸馏水或去离子水

5) 干燥箱，能够保持在60°C或较低的温度。

6) 乙醇，纯乙醇和95%

7) 光学显微镜（4-40倍物镜放大率）

8) 封片剂，诸如Dako Faramount (代码S3025) 或Dako Glycergel (代码C0563)

9) 用于过程控制的阳性或阴性组织（参阅质控切片部分）

10) 载玻片，SuperFrost Plus防脱载玻片，多聚赖氨酸包被载玻片，或Dako 硅烷载玻片 (代码S3003)

11) 二甲苯，甲苯，或二甲苯替代品

SK001 用于 Dako 公司组织染色机，更多信息及使用说明请参考 Dako 公司组织染色机说明书。

【储存条件及有效期】

有效期 9 个月。

未上机时，2~8°C 保存。HercepTest™ 过氧化物酶阻断剂，HercepTest™ 显色剂，HercepTest™ DAB底物缓冲液，以及HercepTest™ DAB色素原2~8°C 暗处保存。

载机稳定性为24°C，80小时。

开瓶稳定性如下：

制备的底物显色液在 2~8°C 下可稳定保存 5 天。

未使用的稀释后的抗原修复液，室温下存放效期为 1 周（7 天），2~8°C 条件下存放效期为 1 个月（31 天）。

不要在瓶上标记的效期后使用。如果试剂未按说明书指定的条件存储，用户须对存储条件进行有效性确认（14a，14b）。注意，质控玻片也必须2~8°C 保存。

尚没有证据显示该产品不稳定。因此，在对患者标本进行检测时，应同时运行阳性和阴性质控。如果异常的染色结果不能用实验室检测过程变化解释，怀疑是抗体的问题质量所导致，请与我们的技术支持人员联系。

生产日期，失效日期：见标签。

【适用仪器】

组织染色机（AutoStainer link 48）

【样本要求】

用于免疫组化染色的活检标本必须进行保存处理。标准的组织处理方法应该适用于所有标本（15）。

对于胃腺癌标本，包括源自活检，剪切，或手术切除的胃食管结合部癌，必须正确处理以保存组织用于免疫组织化学染色。当检测小的活检标本时，确认完整的肿瘤形态学，并保存有足量的肿瘤细胞用于IHC评价。如果对活检标本进行HercepTest™检测，需不同肿瘤区域的多个标本（7-8）来评价活检的标本，以确保对HER2蛋白的评价更为客观。

石蜡包埋的组织切片

组织标本应保存在中性福尔马林缓冲液（对于乳腺癌组织标本：或Bouin's固定液）内常规处理并石蜡包埋以备使用。例如，活检标本厚度应该在3-4毫米之间，在中性福尔马林缓冲液内固定18-24小时。在胃癌ToGA临床试验中活检标本固定6-8小时（请参阅（36））。经一系列酒精和二甲苯脱水、透明，然后在不超过60°的熔化石蜡内浸蜡。如果存储于温度较低的环境内（15-25°C），经适当固定和包埋的表达HER2蛋白的组织在切片和封片前可无限期保存（15, 16）。在美国，1988年颁布的临床实验室改善法案，CFR第42款493.1259（b）要求“实验室自检查之日起必须保留染色后的切片至少10年，相应的组织蜡块自检查之日起至少2年”（16）。

组织标本应该切割成为4-5微米厚的切片并固定于玻片上，室温下干燥至少12小时（直至干燥），或37°C过夜或60°C条件下1小时。注意：在≥60°C的环境超过1小时，可能会导致膜相关蛋白HER2免疫反应活性的降低或丧失（17）。

为了保留免疫原性，封闭在载玻片（SuperFrost Plus，多聚-赖氨酸或硅烷化玻璃切片）上的组织，当在室温（20-25°C）下存储时应该在4-6周内进行染色（18）。需要进行HER2蛋白表达评价并确认肿瘤是否存在的切片，也应该同期准备。建议至少准备5张切片，1张切片用于观察肿瘤是否存在，2张切片用于HER2蛋白表达的评价（1张与兔抗人HER2蛋白抗体孵育，1张与阴性对照试剂孵育），另外2张切片备份保存。为了保留免疫原性，封闭在载玻片（SuperFrost Plus，多聚-赖氨酸或硅烷化玻璃切片）上的组织，当一直在室温（20-25°C）下保存时应该在4-6周内进行染色（18）。

HercepTest™对脱钙组织的应用效果尚未验证，不推荐使用。

参阅Dako公司的“教育指南：免疫组化染色方法”（19），更详细的标本制备信息，请参阅参考文献15和16部分。

【检测方法】

1. 染色前的组织处理

为获得最理想的结果，在0.01 mol/L的柠檬酸盐缓冲液内进行抗原修复是必须的。HercepTest™试剂盒内已提供此抗原修复液。该方法涉及到将固定在玻片上的组织切片放入盛有0.01 mol/L的柠檬酸盐缓冲液的带刻度的水浴箱内或Dako免疫组化预处理系统（PT Link）内，在要求的温度内（95-99 °C）进行热修复（20）。位于海拔高度较高的实验室应该确定保持所需温度的最佳方法。

其它的抗原修复法也进行了测试，但未获得理想的重复性。未能按照以上给出的方法操作可能会影响检测结果。

2. 试剂配制：

在染色前可以很方便地制备相应的试剂：

抗原修复液

用蒸馏水或去离子水按照1: 10的比例配制足够的抗原修复液，用于既定的染色过程。未使用的稀释后的溶液，室温下存放效期为1周，2-8°C条件下存放效期为1个月。若溶液变浑浊，应丢弃。更详细的资料请参阅Dako公司的Automated Link Platform用户指南。

洗脱缓冲液

用蒸馏水或去离子水按照1: 10的比例配制足量的清洗缓冲液。若溶液变浑浊，应丢弃。更详细的资料请参阅Dako公司的Automated Link Platform用户指南。

底物-显色液（DAB）

在用户可充填式试剂瓶内制备底物-显色液，每1毫升的DAB底物缓冲液内添加25微升的

DAB显色液并混匀。制备的底物显色液在2-8°下可稳定保存5天。该溶液在使用前应该充分混匀。溶液内出现的任何沉淀不影响染色效果。

用户可充填式试剂瓶中装入混合后的底物-显色液后，在使用前必须在Dako公司的Automated Link Platform工作平台上进行设定。更详细的信息，请参阅Dako公司的Automated Link Platform工作平台用户指南。

提示：DAB显色液的颜色在透明至浅棕黄色之间。颜色的变换不会影响产品的染色性能。请按照说明书进行稀释。向DAB底物缓冲液内添加过量的DAB显色液可能会导致阳性标记的褪色。

复染

DAB染色反应的最终显色反应在酒精和水溶液内。DAB染色反应的终产物难溶于乙醇和水。苏木素染色液（代码SK308）用于复染。必要的步骤和孵育时间已经在Dako Link的软件内设定。无须制备其它试剂。

封片剂

推荐使用非水溶性，永久封片剂。但是，水溶性封片剂也可以使用。推荐使用Dako Faramount水溶性封片剂，即用型（代码S3025）或Dako Glycergel™封片剂（代码C0563），用于水溶性封片。液化的glycergel在使用前应该预热至大约40（±5）°C。

3. 检测步骤

方法要点

用户应该仔细阅读使用说明书，并熟悉所有成分和试剂的使用方法（参阅注意事项部分）。

在染色过程中的任何阶段均不能使切片干燥。组织切片干燥可能会增加非特异性着色。

染色过程中的所有必需的步骤和孵育时间在Dako Link软件内均进行了设定。参阅 Dako Automated Link Platform(s)相关资料中有关程序方案，放置载玻片和试剂详细说明等。如果染色过程被中断，切片可保存在缓冲液中，接着进行一抗孵育，在室温（20-25 °C）下1小时不会影响染色的效果。

脱蜡及再水化

在进行染色前，组织切片必须脱蜡，以清除包埋介质并重新水化。避免脱蜡不完全。包埋介质残留将会导致非特异性染色的增加。这些操作步骤应该在室温（20-25 °C）下进行。

- 1) 将切片浸入二甲苯染缸中，孵育5（±1）分钟。更换染缸再重复1次。
- 2) 除去过量的液体，并将切片浸入纯乙醇内3（±1）分钟。更换染缸再重复1次。
- 3) 除去过量的液体，并将切片浸入95%的乙醇内3（±1）分钟。更换染缸再重复1次。
- 4) 除去过量的液体，并将切片浸入蒸馏水或去离子水内30秒。

按照切片染色规程中抗原修复部分中所描述的内容开始染色。

二甲苯和酒精溶液应该在使用40张切片后更换。也可以使用甲苯或二甲苯替代品，诸如Histoclear。

提示：本试剂盒所使用的试剂和说明书已经进行了相应的最佳优化。对试剂进一步的稀释或改变孵育温度可能会导致错误或不一致的结果。用户所在实验室组织处理及技术方法的差异，可能会导致使用曲妥单抗疗法患者选择的错误。

染色规程

所有必要的步骤及孵育时间在Dako公司的全自动连接工作平台上Automated Link Platform(s)的软件内进行了设定。脱蜡，水化及抗原修复后，设备将按照以下流程对切片进行处理。

步骤 1: 抗原修复

将抗原修复液（参阅试剂制备部分）倒入免疫组化预处理系统 Dako PT水槽或染色缸中，例如Coplin染色缸。

Dako 免疫组化预处理系统PT Link: 将抗原修复液倒入免疫组化预处理系统水槽内预热至85°C。一经加热抗原修复液即呈雾状。将室温下脱蜡的切片放置到在自动染色系统支架上，

浸入预热的抗原修复溶液内。将免疫组化预处理系统Dako PT Link加热至97°C，并在97°C条件下孵育40（±1分钟）。使切片在免疫组化预处理系统Dako PT Link内冷却85 °C。从免疫组化预处理系统Dako PT Link内取出装有切片的支架。使染色缸在工作台上打开盖子继续冷却。采用清洗缓冲液清洗切片。更详细的信息，请参阅Dako PT Link用户指南。

Coplin染色缸：将装有抗原修复液的染色缸置于水浴锅内。加热水浴锅，使修复液的温度达95-99°C。一旦抗原修复液成云雾状外观，盖上染色缸盖子，使温度稳定在一个水平上，并避免蒸发。将室温下脱蜡的切片浸入染色缸中预热的抗原修复液内。**将水浴箱和抗原修复液的温度调回95-99°C。**并在95-99°C条件下孵育40（±1分钟）。从水浴箱内取出装有切片的染色缸。室温下使切片在抗原修复液内冷却20（±1）分钟。倒出抗原修复液后用洗脱缓冲液清洗切片。

为了获得最佳的性能，在染色前，抗原修复后，将切片在洗脱缓冲液内浸泡5-20分钟。

提示，抗原修复液为一次性使用品，不要重复使用。

步骤 2：染色过程

抗原修复后，将切片放置于支架上，并将支架放置于Dako Automated Link Platforms上。机器将进行染色过程，添加适量的试剂，监控孵育时间，并在每次添加试剂之前清洗切片。试剂的孵育时间已经在Dako Link软件内预先进行了相应的设定。

步骤 3：复染

采用苏木素染色液（代码SK308）进行玻片复染。Dako软件内提供了两种染色方案。一种染色方案包括苏木素染色液复染，而另外一种染色方案不包括苏木素染色液复染。苏木素染色液的孵育时间在包括复染的方案内已预先设定。有关程序设定方案更详细的资料，请参阅于Dako Automated Link Platforms用户指南。

步骤 4：封片

推荐使用非水溶性，永久封片剂。但是，水溶性封片剂也可以使用。Dako Faramount 水溶性封片剂，即用型（代码S3025）或Dako Glycergel™封片剂（代码C0563），用于水溶性封片。

提示：可方便时再读片。但是，如果用的是水溶性的封片剂，暴露于强光下1周可能会退色。为了最大限度地减少退色，应该将切片于室温（20-25°C）下暗处存储。

3.质量控制

实验室在组织标本固定，处理，以及包埋过程中与本方法的差异可能会导致染色结果的显著性差异，除了Dako公司提供的质控切片，定期常规的室内质控是必须的。

在美国，有关质控问题，可以参阅美国病理学院（College of American Pathologists, CAP）认证项目内有关免疫组化的相关问题，也可以参阅CLSI（正式的名称为NCCLS）有关免疫组化质量控制，已经批准的指南（23）及标准24内附加的资料。

组织：跟患者标本一样固定和处理	特异性抗体及检测系统	非特异性抗体*或同样用于特异性抗体的缓冲液检测系统
阳性质控： 包含可检测到目的抗原的组织或细胞（位于患者的组织）。理想的质控应该是弱阳性的染色组织，由于这些组织对抗体或抗原降解最敏感	控制所有的分析步骤。采用 HER2 蛋白染色对试剂和方法进行评价	检测非特异性染色背景
阴性质控： 阴性的组织或细胞（位于患者	检测意外的抗体与细胞或细胞成分的交叉	检测非特异性染色背景

组织或阳性质控组织内)	反应	
患者组织	检测特异性染色	检测非特异性背景染色
由 Dako 公司提供质控切片	只控制染色过程	

表 1: 日常质控的目的。

* 特异性抗体是来自同一物种的血清标本，但是并不直接针对同一靶抗原。检测非特异性抗体结合，例如，与组织内抗体的Fc段结合。

质控切片（提供）

每一片所提供的质控切片内包含3个福尔马林固定，石蜡包埋的人类乳腺癌细胞系，染色强度评分为0，1+，和3+。每次染色需要一张切片。Dako公司提供的细胞系染色质控切片旨在对染色有效性进行评价。

阳性质控组织

质控应该是新鲜的尸检/活检/手术标本，并和患者标本同样的方法尽快固定、处理和石蜡包埋。阳性组织质控可标示出组织制备正确，染色技术适当。每次染色运行应包括每个测试条件的阳性质控组织的检测。

阳性质控组织应该给出弱阳性的染色结果，以便能够检测到一抗灵敏度的微弱变化。试剂盒内提供的质控切片或标本如果处理方法与患者标本的处理方法不同，仅能够对试剂的性能进行评价，并不能确认组织制备方法的优劣。前述的HER2蛋白2+过表达侵入性（浸润性）人类乳腺癌组织，可作为理想的阳性质控组织。

提示：已知的阳性质控组织仅能用于监控标本处理和测试试剂的性能，并不能用于辅助患者标本的特定诊断。如果阳性质控标本未能显示适当的阳性染色，患者标本的检测结果是无效的。

阴性质控组织

阴性质控组织（已知HER2蛋白表达阴性）的固定，处理，以及包埋方法与患者标本一致，在每次染色运行时用以确认一抗的特异性，并能够提供特异性染色的背景。结肠，肝脏或甲状腺组织为合适的阴性质控组织。多数组织切片内不同细胞类型的多样性提供了内部阴性质控部位（这种对照应该由用户确认）。正常的乳腺腺管细胞也可以作为内部质控。

如果阴性质控组织或内部阴性质控出现了特异性染色，患者标本的检测结果是无效的。

有关质控切片详细资料，请参阅Dako Automated Link Platforms用户指南。

非特异性阴性质控试剂

用所提供的非特异性阴性质控试剂代替一抗，检测每一个患者标本切片评估非特异性染色，可对抗原部位的特异性染色给出更好的解释。阴性质控试剂孵育时间应和一抗的孵育时间一致。

分析性能验证

在诊断过程中染色系统初次使用之前，用户应该在一系列室内质量控制的组织上进行分析性能确认，与已知的免疫组织化学性能特征相比较，这些性能特征反映在已知的阳性和阴性组织上。参阅既往质量控制方法内所述的具有代表性的已知阳性和阴性组织。参考本产品说明书内既往所述的质量控制方法，以及 CAP 认证项目有关免疫组化及/或 CLSI（正式名称为 NCCLS）免疫组化质量保证部分，已经批准的指南（23）。这些质量控制程序应该对每个新批号的抗体或分析参数的变化都是可重复的。对于乳腺癌检测，已经明确 HER2 蛋白表达强度 0-3+的乳腺癌，及阴性组织，如结肠，肝脏，或甲状腺组织是合适的分析验证组织。

对于胃癌检测，已经明确 HER2 蛋白表达强度 0-3+ 的胃腺癌组织，包括胃食管结合部癌组织，及阴性组织，如结肠，肝脏，或甲状腺组织是合适的分析验证组织。

4. 故障处理

参阅 Dako 公司的参考手册内的故障处理部分（19），有关校正措施，或发现异常染色直接与 Dako 公司的技术支持人员联系。

<i>问题</i>	<i>可能的原因</i>	<i>建议措施</i>
1. 切片无染色	1a. 程序设定错误。试剂未按正确顺序使用。 1b. 清洗液内含有叠氮钠。 1c. 组织切片在脱蜡和热诱导抗原修复前对组织过度加热，也可能导致 HER2 蛋白免疫反应性的丧失。	1a. 检测玻片的处理日志确认程序选择正确。 1b. 仅能采用 Dako 公司的清洗缓冲液，代码 S3006。 1c. 在室温下空气内组织切片干燥至少 12 小时，或直至其干燥。相应地，37°C 过夜干燥或 60°C 干燥至多 1 小时。组织切片在温度升高的环境内干燥必须在有校准功能的烤箱内进行，热量的分布必须均一（17）。
2. 切片染色弱	2a. 抗原修复不充分。 2b. 试剂孵育时间不够。 2c. 所用的固定方法不合适。 2d. 组织切片在脱蜡和抗原修复前固定时加热过渡导致免疫反应性丧失。	2a. 检查切片抗原修复日志，确认已经进行了正确的抗原表位修复。 2b. 设和切片日志确认试剂孵育时间是否正确。 2c. 确认患者的组织没有过渡固定，或没有使用适当的固定剂。 2d. 在室温下空气内组织切片干燥至少 12 小时，或直至其干燥。相应地，37°C 过夜干燥或 60°C 干燥至多 1 小时。组织切片在温度升高的环境内干燥必须在有校准功能的烤箱内进行，热量的分布必须均一（17）。
3. 切片背景染色过重。	3a. 未能彻底脱蜡。 3b. 在组织固定到玻片上之前添加淀粉。 3c. 切片未能充分清洗。 3d. 在染色过程中切片干燥。 3e. 使用不适当的固定方法。 3f. 试剂与组织非特异性结合。	3a. 采用新鲜配制的溶液脱蜡。 3b. 避免使用淀粉添加剂将组织粘附到切片上。许多添加剂有免疫反应性。 3c. 检查切片日志，确认切片已经过充分清洗。 3d. 确认向玻片上添加的试剂体积是否正确。 3e. 确保使用批准的固定剂。替代固定剂可能会导致背景染色过深。 3f. 检查标本的固定方法及是否有坏死。

4. 组织脱片。	4a. 使用不正确切片。	4a. 采用硅烷化玻片，诸如Dako公司的硅烷化玻片，（代码 S3003），SuperFrost Plus或多聚赖氨酸包被的玻片。
----------	--------------	---

问题	导致问题的原因	建议采取的措施
5. 特异性染色过强。	5a. 使用的固定方法不适当。 5b. 试剂孵育时间过长。 5c. 使用不适当的洗脱缓冲液。	5a. 确保仅能使用批准的固定剂和固定方法。 5b. 审核切片日志，确认试剂孵育时间正确。 5c. 只能使用 Dako 洗脱缓冲液，代码 S3006。
6. 质控切片细胞系 1+弱阳性。	6a. 采用的抗原修复方案不正确。 6b. 未能与底物显色液(DAB)反应。 6c. 质控切片降解。	6a. 审核切片日志，确认是否进行了正确的抗原修复。 6b. 审核运行日志，确认显色剂制备是否正确。审核切片日志，确认显色剂孵育时间是否正确。 6c. 检查试剂盒有效期，以及试剂盒包装上的存储条件。
7. 当加热时，抗原修复溶液是否呈云雾状外观。	7. 当加热溶液时，是否转化成云雾状外观。	7. 这是正常的现象，不影响染色效果。
8. 存储过程中（未加热时），抗原修复液即呈云雾状外观。	8. 溶液存储条件错误或溶液已经超过了有效期。	8. 检查试剂盒外包装上的存储条件，丢弃过期的抗原修复液。

提示： 如果问题不能归咎于任何上述原因，或按照建议的纠正措施操作，问题仍未能解决，请与 Dako 公司的技术支持联系，寻求进一步的帮助。有关染色技术和标本制备的其他详细资料，可以在 Dako 公司操作手册（19）（可从 Dako 公司获取），Atlas 免疫组织化学（29）以及免疫过氧化物技术手册内找到。也可以参阅肿瘤诊断的实用方法。

【检测结果的解释】

针对乳腺癌

1) 染色结果的解释

HER2 蛋白过表达仅检测膜的染色强度和方式，应该采用表 2 内给出的评分标准进行评价。由病理学家在光学显微镜下对切片进行评价。采用 10 倍放大的光学显微镜用于免疫组化染色的评价及打分是合适的。用 20-40 倍放大的光学显微镜对染色打分进行确认。细胞质的染色为非特异性染色，不列入膜染色强度的评价（8）。为了帮助 0, 1+, 2+, 以及 3+染色强度的鉴别，请参阅 Dako 公司的“HercepTest™解释手册 - 乳腺癌”- 染色强度图例。

只对浸润性乳腺癌患者的标本进行评分。如果同一标本内既有原位癌又有浸润癌，只对浸润癌评分。

表2：细胞膜染色强度标准

染色判读	评分（报告给主治医生）	HER2 蛋白过表达评价（报告给主治医生）
没有观察到染色或低于 10% 肿瘤细胞膜染色	0	阴性
超过 10% 的肿瘤细胞弱的膜染色或几乎难以察觉的膜染色。这些细胞仅是部分膜染色。	1+	阴性
超过 10% 的细胞弱到中等完整的膜染色。	2+	弱阳性
超过 10% 的肿瘤细胞细胞膜强染色	3+	强阳性

HercepTest™针对HER2蛋白过表达的检测结果为阴性（染色强度为0和1+），弱阳性（染色强度为2+），以及强阳性（染色强度为3+）。HercepTest™并非用于为患者和医生提供预后诊断信息，也不能针对该目的进行评价。

每轮染色，切片均需按照表3内给出的顺序进行检查，确定每轮染色结果的有效性，以此对样本组织的染色强度进行半定量评价。

表3：切片评估的顺序。

读片顺序	基本原理
1. 包含 3 个细胞系的质控切片	SK-BR-3 质控细胞系呈现 3+的棕色细胞膜染色（边缘），质控细胞系 MDA-175 部分棕色边缘染色，MDA-231 质控细胞系无染色，表明是一次有效染色。 在 MDA-175 质控细胞系内也可以观察到少数至中等数量的弱阳性 1+染色，呈不均一及不连续型膜染色。该细胞系也可观察到在细胞质的 Golgi（高尔基）体区域点状免疫染色。 MDA-231 质控细胞系内棕色染色（HER2 蛋白染色为阴性）表明分析过程存在非特异性染色。分析结果可能因为过度染色而无效。
2. 阳性质控组织切片	应该能够观察到棕色的膜染色。细胞质染色和阴性组织染色应该不超过 1+。
3. 阴性质控组织切片	阴性质控组织切片上未出现特异性染色，证明试剂盒对相应的细胞/细胞成分没有交叉反应。如果在阴性质控组织切片上出现了特异性膜染色，该患者的标本染色结果应该考虑是无效的。
4. 采用阴性质控试剂所进行患者标本切片染色	缺乏特异性膜染色证明针对靶抗原的一抗标记为特异性标记。 用阴性质控试剂处理过的标本细胞质内的深棕色或棕色染色，诸如结缔组织，白细胞，红细胞，或坏死组织，应是非特异性背景染色，应该在相应的数据报告单内给出注释。
5. 用一抗进行的患者组织切片染色	当在标本内检测到 HER2 蛋白过表达时，应该以棕色环形出现于一抗处理后的肿瘤细胞膜上。

1. 质控切片 (提供): 用于 HercepTest™染色的质控切片应该首先进行观察, 以确认所有的试剂功能正常。在细胞膜上存在棕色 (3, 3'-二氨基联苯胺, DAB) 反应产物应该认为是阳性反应。

3+质控细胞系 SK-BR-3 存在环形的棕色细胞膜染色 (环型), 1+质控细胞系 MDA-175 存在部分的棕色环形, 以及 0 质控细胞系 MDA-231 没有染色, 表示该染色为有效染色。如果任何质控细胞系的染色超过了这个标准, 现有标本的染色结果应该是无效的。

2. 阳性质控组织: 阳性质控组织切片应该随后检查。该切片确认固定方法和抗原修复的有效性。采用完整的细胞系解释染色的结果, 因为坏死和变性的细胞通常会出现非特异性染色 (25)。染色应该在肿瘤组织内观察到棕色, 呈细胞膜染色。细胞质的棕色染色及标本内阴性组织染色强度评分不应该超过 1+。

3. 阴性质控组织: 阴性质控组织切片应该在阳性质控组织切片检测后进行, 以确认一抗标记靶抗原的特异性。阴性质控组织内缺乏特异性抗原染色证明该试剂盒与细胞系/细胞成分没有交叉反应。如果阴性质控组织出现特异性染色, 患者标本的检测结果应为无效。相应地, 阳性质控组织的阴性部分可以作为阴性质控组织, 但这需要用户进行确认。值得注意的是在多数正常上皮组织可以观察到弱反应 (染色强度为 0~1+)。可能的阴性质控组织包括: 结肠, 肝脏和甲状腺。

非特异性染色, 如果存在, 将呈弥散形外观。点状散在的结缔组织染色也可在福尔马林固定过度的组织切片上观察到。

4+5. 患者组织: 最后对用 HercepTest™染色的患者组织进行检测。阳性染色强度的判定应该在阴性质控试剂染色的非特异性着色背景下进行。由于进行任何免疫组织化学分析, 阴性的结果意味着抗原未能被检测到, 抗原在所分析的细胞/组织内缺乏。参阅有关 HercepTest™免疫反应性的总结和解释, 局限性, 以及性能参数特殊信息部分。

2) 对 HercepTest™染色结果解释的其他推荐信息

多数转移性乳腺癌 HER2 蛋白过表达的结果获得 0 或者 3+评分。当这些患者中的多数已经全切 or 全部切除, 少数 1+和 2+的病例依然难以确定。在您的实验室可用下列指南进行 HercepTest™染色结果解释。

1. 评价质控细胞系以确认分析性能。
2. 评价阳性和阴性质控片的结果。
3. 苏木素伊红 (H&E) 对样本的染色结果可以作为初次评价。(在 HercepTest™染色背景下肿瘤细胞可能不明显。病理学家要求进行苏木素伊红染色以确定组织中是否存在肿瘤细胞)。HercepTest™应该同一蜡块一对 (连续) 切片上进行。
4. HER2 蛋白过表达切片染色应该在首先在低倍镜下进行。大部分的阳性细胞可以在低倍放大下清晰地观察到。
5. 保存完好, 染色充分的标本区域应用于阳性肿瘤细胞数目的检测。
6. 一般而言, 患者的评分应在低倍镜下清晰判读。如果在低倍镜下 1+/2+的判读困难, 通常评分记为 1+。
7. 为了确认膜染色, 采用 20-40 倍的物镜放大倍数。
8. 如果大多数肿瘤细胞有完整的膜染色, 染色结果是 2+或 3+, 需用 20-40 倍的放大镜进行评分确认。
9. 对于多数 3+患者, 至少有 80%的肿瘤细胞为阳性染色, 膜染色强度高。
10. 如果标本中有接近 10%临界值的肿瘤细胞阳性, 推荐至少计数 100 个肿瘤细胞, 以确定染色细胞的百分数。
11. 如果肿瘤细胞完整膜染色在弱和中等之间但计数超过 10%, 标本的评分应该为 2+。这种情况下其余的肿瘤细胞多数伴有不完整的膜染色。
12. 如果有低于 10%的肿瘤细胞有完整的环形膜染色, 尽管其他肿瘤细胞可能显示不完整的膜染色, 评分应该为 1+。
13. 如果有低于 10%的肿瘤细胞有完整的或不完整的环形膜染色, 积分应该为 0。

针对胃癌

1) 染色结果的解释

HER2蛋白过表达仅检测膜的染色强度和方式，应该采用表9内给出的评分标准进行评价。由病理学家在光学显微镜下对切片进行评价。采用10倍放大的光学显微镜用于免疫组化染色的评价及打分是合适的。用5-40倍放大的光学显微镜对染色打分进行确认。细胞质的染色为非特异性染色，不列入膜染色强度的评价（8）。为了帮助0，1+，2+，以及3+染色强度的鉴别，请参阅Dako's公司的“HercepTest™解释手册 – 胃癌”- 染色强度图例。

只对胃腺癌，包括胃食管癌患者的标本进行评分。如果同一标本内既有肠上皮化生又有胃腺癌，只对胃腺癌评分。对于HercepTest™切片染色结果，推荐每簇肿瘤细胞应该至少包括5个肿瘤细胞。在至少染色阳性的5个肿瘤细胞簇中，相邻的HER2染色阳性肿瘤细胞至少5个。

表 9：HER2 免疫组织化学 HER2 细胞膜染色的解释及评分

积分	手术切除标本染色模式	活检标本染色模式	HER2 蛋白过表达评价
0	无反应性或低于 10% 肿瘤细胞膜染色	任何（或<5 团）肿瘤细胞无反应性或无膜反应性。	阴性
1+	≥10%肿瘤细胞肉眼可见的弱或微弱的膜染色；这些细胞仅部分膜染色	肿瘤细胞团（>5 个肿瘤细胞）弱或微弱的膜染色，不考虑染色的肿瘤细胞所占的比例	阴性
2+	≥10%的肿瘤细胞完整的弱到中等的染色。	肿瘤细胞团（>5 个肿瘤细胞）弱至中等强度的染色，不考虑基底膜或侧位膜反应性细胞所占的比例	不确定
3+	≥10%肿瘤细胞的细胞膜强染色，基底膜或侧位膜反应性	肿瘤细胞团（>5 个肿瘤细胞）细胞膜强染色，不考虑基底膜或侧位膜反应性细胞所占的比例	强阳性

指南的制定是基于 Hoffmann 等的观点（39）。

HercepTest™针对HER2蛋白过表达的检测结果为阴性（染色强度为0和1+），不确定（染色强度为2+），以及强阳性（染色强度为3+）。HercepTest™不用于为患者和医生提供预后信息，此用途未评价。

每轮染色，切片均需按照表10内给出的顺序进行检查，确定每轮染色结果的有效性，以此对样本组织的染色强度进行半定量评价。

表10：切片评估的规则。

读片规则	基本原理
1. 包含 3 个细胞系的对照玻片	3+质控细胞系 SK-BR-3 呈现 3+的棕色细胞膜染色（边缘），1+质控细胞系 MDA-175 部分棕色边缘染色，0 质控细胞系 MDA-231 无染色，表明是一次有效染色。

	在 MDA-175 质控细胞系内也可以观察到少数至中等数量的弱阳性 1+染色，呈不均一及不连续型膜染色。该细胞系也可观察到在细胞质的 Golgi 体区成点状免疫染色。 0 质控细胞系 MDA-231 内棕色染色(HER2 蛋白染色为阴性)表明分析过程存在非特异性染色。分析结果可能因为过度染色而无效。
2. 阳性质控组织切片	应该能够观察到棕色的膜染色。细胞质染色和阴性组织染色应该不超过 1+。
3. 阴性质控组织切片	阴性质控组织切片上 没有 特异性染色，证明试剂盒对相应的细胞/细胞成分没有交叉反应。如果在阴性质控组织切片上出现了特异性膜染色，该患者的标本染色结果应该考虑是无效的。
4. 采用阴性质控试剂所进行患者标本切片染色	缺乏特异性膜染色证明针对靶抗原的一抗标记为特异性标记。 用阴性质控试剂处理过的标本细胞质内的深棕色或棕色染色，诸如结缔组织，白细胞，红细胞，或坏死组织，应是非特异性背景染色，应该在相应的数据报告单内给出注释。
5. 用一抗进行患者组织切片染色	当在标本内检测到 HER2 蛋白过表达时，应该以棕色环形出现于一抗处理后的肿瘤细胞膜上。

1. 质控切片（提供）：用于 HercepTest™染色的质控切片应该首先进行观察，以确认所有的试剂功能正常。在细胞膜上存在棕色（3, 3'-二氨基联苯胺，DAB）反应产物应该认为是阳性反应。

3+质控细胞系 SK-BR-3 存在环形的棕色细胞膜染色（环型），1+质控细胞系 MDA-175 存在部分的棕色环形，以及 0 质控细胞系 MDA-231 没有染色，表示该染色为有效染色。如果任何质控细胞系的染色超过了这个标准，现有标本的染色结果应该是无效的。

2. 阳性质控组织：阳性质控组织切片应该随后检查。该切片确认固定方法和抗原修复是有效的。采用完整的细胞系解释染色的结果，因为坏死和变性的细胞通常会出现非特异性染色（25）。染色应该在肿瘤组织内观察到棕色，呈细胞膜染色。细胞质的棕色染色及标本内阴性组织染色强度评分不应该超过 1+。

3. 阴性质控组织：阴性质控组织切片应该在阳性质控组织切片检测后进行，以确认一抗标记靶抗原的特异性。阴性质控组织内缺乏特异性抗原染色证明该试剂盒与细胞系/细胞成分没有交叉反应。如果阴性质控组织出现特异性染色，患者标本的检测结果应为无效。相应地，阳性质控组织的阴性部分可以作为阴性质控组织，但这需要用户进行确认。值得注意的是在多数正常上皮组织可以观察到弱反应（染色强度为 0~1+）。可能的阴性质控组织包括：结肠，肝脏和甲状腺。

非特异性染色，如果存在，将呈弥散形外观。点状散在的结缔组织染色也可在福尔马林固定过度的组织切片上观察到。

4+5. 患者组织：最后对用 HercepTest™染色的患者组织进行检测。阳性染色强度的判定应该在阴性质控试剂染色的非特异性着色背景下进行。由于进行任何免疫组织化学分析，阴性的结果意味着抗原未能被检测到，抗原在所分析的细胞/组织内缺乏。参阅有关 HercepTest™免疫反应性的总结和解释，局限性，以及性能参数特殊信息部分。

2) 对 HercepTest™染色结果解释的其他推荐信息

胃腺癌，包括胃食管结合癌患者 HER2 蛋白过表达评分范围从 0 至 3+。当 0 和 3+的患者已经全切 or 全部切除，少数 1+和 2+的病例依然难以确定。

在您的实验室可用下列指南进行 HercepTest™染色结果解释。

1. 评价质控细胞系以确认分析性能。

2. 评价阳性和阴性质控片的结果。
3. 苏木素伊红 (H&E) 对样本的染色结果可以作为初次评价。(在 HercepTest™染色背景下肿瘤细胞可能不明显。病理学家要求进行苏木素伊红染色以确定组织中是否存在肿瘤细胞)。HercepTest™应该同一蜡块一对 (连续) 切片上进行。
4. HER2 蛋白过表达切片染色应该在首先在低倍镜下进行。大部分的阳性细胞可以在低倍放大下清晰地观察到。
5. 对于 1+ 的患者, 采用 40 倍物镜放大倍数确认细胞膜的染色。
6. 对于 2+ 的患者, 采用 10 到 20 倍物镜放大倍数确认细胞膜的染色。

手术标本

1. 保存完好, 染色充分的标本区域应用于阳性肿瘤细胞数目的检测。
2. 如果多数肿瘤细胞显示完整的, 基底或侧面膜染色, 染色强度应该为 2+ 或 3+。
3. 手术标本中大于或等于 10% 的肿瘤细胞显示完整的, 基底或侧面膜强染色, 标本染色强度应该为 3+。
4. 手术标本中大于或等于 10% 的肿瘤细胞显示完整的弱至中等程度的, 基底或侧面膜染色, 标本染色强度应该为 2+。
5. 手术标本中大于或等于 10% 的肿瘤细胞部分细胞膜着色, 强度为弱或微弱, 标本染色强度应该为 1+。
6. 手术标本中只有低于 10% 的肿瘤细胞染色, 无论染色的模式如何 (如, 完整的, 基底侧面或侧面部分细胞膜), 该标本染色强度均为零。
7. 没有染色, 染色强度评分为 0。

活检标本

1. 至少有 5 个染色的肿瘤细胞组成的细胞团, 由 5 个连续的 HER2 蛋白染色肿瘤细胞构成。
2. 至少有 5 个染色的肿瘤细胞组成的细胞团, 其染色呈强的完整性, 基底侧面或侧面膜染色, 评分应该为 3+, 不考虑染色肿瘤细胞所占的比例。
3. 至少有 5 个染色的肿瘤细胞组成的细胞团, 其染色呈弱至中等强度完整的基底侧面或侧面膜染色, 评分应该为 2+, 不考虑染色肿瘤细胞所占的比例。
4. 至少有 5 个染色的肿瘤细胞组成的细胞团, 其染色呈微弱/弱的可见部分膜染色, 评分应该为 1+, 不考虑染色肿瘤细胞所占的比例。
5. 如果该活检标本上没观察到染色, 评分为 0。
6. 如果膜染色 (不考虑染色强度) 少于 5 个肿瘤细胞团, 评分为 0。

【检测方法的局限性】

1) 一般局限性

1. 免疫组织化学是一种多步骤的诊断方法, 要求在适当的试剂选择; 组织的筛选, 固定和处理; 免疫组织化学切片的制备; 以及染色结果的解释时均需经过特殊的培训。
2. 组织染色的结果取决于在染色前对组织的处理或加工。不适当的固定, 冷冻, 冻融, 清洗, 干燥, 加热, 切片, 或其他组织或液体的污染均可能导致人为的误差, 抗体封闭, 或假阴性的结果。不一致的结果可能是由于固定或包埋方法的不同所致, 或可能由于组织内部变化导致。
3. 过度或不完整的复染也可能导致对结果的误判。
4. 对任何阳性结果或阴性结果的临床解读, 必须在临床表现的范围内解释, 并结合形态学及其他病理组织学标准。对任何染色或缺乏染色的临床结果的解释, 必须通过形态学观察, 以及其他诊断测试并进行适当质控下进行。对染色结果进行解释是病理学家职责, 他们熟悉抗体、试剂、以及使用方法。染色必须在有资质的实验室, 在病理学家的监督下进行, 由其负责审核染色结果并确保阳性和阴性质控的准确。
5. 感染乙肝病毒患者, 且乙肝病毒表面抗原 (HBsAg) 阳性患者的组织, 用辣根过氧化物酶染色时可能会表现为非特异性染色 (26)。
6. 试剂可能会与既往未测试过的组织产生非预期反应。非预期反应即便是在已测试过

的组织也不可能完全排除，由于抗原在新生组织上抗原表达的生物多样性所致，或由于其他病理组织所导致（27）。出现非预期反应，请联系 Dako 公司的技术支持。

7. 假阳性的结果可能是由于蛋白质的非免疫性结合或与底物反应所致。也可能导致假性过氧化物酶活性（红细胞），以及内源性过氧化物酶活性（细胞色素 C）（27）。
8. 染色过程需在程序设定的室温（20-25°C）下进行。

2) 产品特性的局限性

1. 质控细胞系 MDA-175 上的抗原易于随时间而降解。评价质控玻片的结果应该结合质控玻片的有效期。MDA-175 细胞的阴性染色结果可能仅仅是表明质控切片上抗原已经降解。质控切片必须 2-8°C 储存。
2. 假阴性的结果也可能是由于组织内的抗原随时间而降解。在室温（20-25°C）储存时，标本应该在切片后 4-6 周内进行染色。
3. 不要用其他批号的试剂，或来其他厂商的试剂替换试剂盒内的试剂。
4. 假阳性的结果可能源自对细胞质染色的评价。当评定染色结果时，仅对细胞膜染色强度进行读取。
5. 染色的质控切片只用于染色运行的确认，不能用作组织切片染色结果的评分依据。
6. 偶见强病灶染色（3+），即所谓的“热点”。可能是固定及/或组织处理不均一所致。推荐用同一标本的另一个蜡块进行染色。
7. 用 HercepTest™ 中的固定剂固定标本而不是用中性福尔马林缓冲液或 Bouin's 固定剂，其结果尚未确认。
8. 乳腺组织中的正常上皮组织染色强度应该在 0 和 1+ 之间。如果正常上皮染色高于 1+，应重复检测。值得注意的是正常扁桃体和食管上皮的染色强度可能会达到 2+。
9. 需要注意的是正常的扁桃体和食管上皮细胞染色强度可能达到 2+。
10. 应该避免对活检组织边缘碎裂的胃癌标本判读，这些标本的结果是容易受人为因素的影响染色结果。

【产品性能指标】乳腺

临床比对研究

“研究用免疫组化试剂（CTA）”用于为曲妥单抗临床研究选择合适的患者，该试剂现已不再使用，HercepTest™ 是为替代 CTA 而研发的产品。

HercepTest™ 检测 HER2 蛋白过表达的性能通过对 548 例乳腺癌采用 HercepTest™ 与 CTA 染色进行比对分析来完成。这些患者中没有参加曲妥单抗临床研究的患者。结果显示，这两种检测方法对这些患者的检测具有 79% 的符合率。

这些一致性结果也表明，HercepTest™ 检测结果为 3+，非常有可能对应于 CTA 上的阳性结果，这些患者可能符合临床试验的入选标准（2+ 或 3+）。HercepTest™ 检测 2+ 的结果与 CTA 的检查结果并不一致。大约 42%（53/126）的 HercepTest™ 检测为 2+ 的结果采用 CTA 检测结果为阴性（0~1+），这些患者不能入选参加曲妥单抗临床试验。

HercepTest™ 对 HER2 过表达的检测结果分为阴性（染色强度 0 和 1+），弱阳性（2+ 染色强度），强阳性（3+ 染色强度）。

HercepTest™ 与 CTA 的结果比较。

样本包括 274 例 HER2 蛋白阳性（2+ 或 3+）适用曲妥单抗治疗的合适患者以及相同数量的 HER2 蛋白表达阴性的乳腺癌患者。表 4 是结果的 2x2 列联表，其中 0 和 1+ 为阴性，而 2+ 和 3+ 为阳性。

表 4: HercepTest™ 结果与 CTA 结果（标本数）的一致性 2x2 表。

		临床试验		总计
		阳性	阴性	
HercepTest	阳性	216	59	275
	阴性	58	215	273
总计		274	274	548

一致性：79%（76%~82%）95%置信区间。

HercepTest™结果与临床试验结果的整体双向一致性为 79%（431/548），双侧 95% 的置信区间为 76~82%。两种测试方法之间 21% 的患者不一致。

HercepTest™结果报告范围为 0-3+，HER2 蛋白过表达分为阴性（染色强度 0 和 1+），弱阳性（2+染色强度）和强阳性（3+的染色强度）。

表 5: HercepTest™结果与 CTA 结果的一致性 3x3 表。

		CTA			总计
		3+	2+	0-1+	
HercepTest	3+	107	36	6	149
	2+	16	57	53	126
	0-1+	8	50	215	273
总计		131	143	274	548

这个 3x3 一致性的研究结果表明，在 HercepTest™检测结果为 3+，非常有可能与 CTA 的阳性结果一致，可能符合曲妥单抗临床研究的入组标准（2+和 3+）。其中 2+ 的 HercepTest™检测结果与 CTA 的分析结果可能并不一致。大约为 42%（53/126）的 HercepTest™分析结果 2+，但 CTA 分析结果为阴性（0~1+），可能不能入组参加曲妥单抗临床试验。

准确性

HercepTest™也在两台显微镜上对来自石蜡包埋的 168 例乳腺癌组织进行了测试。这些肿瘤组织已经采用其他 5 种不同的方法对 HER2 基因扩增或蛋白过表达进行了测定，包括室内 Southern blot，荧光原位杂交（FISH）用于 DNA 扩增，Northern blot RNA 分析，Western blot，以及在冰冻组织上免疫细胞化学分析（28）。结果见表 6。

表 6. HercepTest™结果与基因扩增与 HER2 蛋白过表达联合分析的结果（OE）比较。

		参考 OE 分类		总计
		+	-	
HercepTest	+	43	0	43
	-	26	99	125
总计		69	99	168

阳性一致率：43/69 = 62%

阴性一致率： 99/99 = 100%

阳性(2+和 3+)和阴性(0 和 1+)总体符合率 85%(142/168)(95%的置信区间为 78-89%)。5 种分析方法均证实为阴性的患者中没有 1 例 HercepTest™检测结果为阳性，而 5 种联合分析方法检出更多的阳性例数。

重复性

批内重复性

在 1 个实验室内对 5 个不同 ICC 强度染色评分标本进行了重复染色。每个标本采用随机双盲法重复染色 3 次。该方案在自动染色系统上进行。所有标本给出了 100%的重复性结果。

批间重复性

批间重复性在 3 个实验室内 4 天中对 5 例不同的 ICC 强度标本进行染色评分，采用随机双盲法，在自动染色系统上进行。阳性结果比阴性结果具有更好的重复性，在同一个实验室内出现了 2 例标本评分出现 1+和 2+之间的差异。2+和 3+的标本重复性为 100%。

室间的重复性

室间重复性测试在三所地理位置不同的实验室内进行，对 40 例随机双盲的各种 ICC 染色强度标本进行评分。新鲜切片同时提供给每个实验室用于自动染色系统，并由病理专家进行评分，采用阳性/阴性评分，0 和 1+为阴性，2+和 3+确定为阳性。室间一致性的百分比为 83%~90%之间。与进行 CTA 检测的参考实验室检测结果进行比较，阴性结果(0 和 1+)之间存在 12.5% (15/120) 的差异。阴性结果(2+和 3+)之间存在 10% (12/120) 的差异。

免疫反应性

表 7 是 HercepTest™检测一组正常组织的免疫活性的结果。所有的组织均为福尔马林固定、石蜡包埋的组织，并按照说明书给出的方法进行用 HercepTest™进行测试。

表 7： HercepTest™对正常组织反应性的检测结果总结。

组织类型 (检测编号)	阳性组织部分及染色 分布模式
肾上腺 (3)	内分泌细胞, 细胞质 (2+ 染色强度)
骨髓 (1)	无
脑组织/小脑 (3)	无
脑组织/小脑 (3)	无
乳腺 (3)	乳腺 (1+ 染色强度)
子宫颈(3)	上皮, (1/3 组织, 2+ 染色强度)
结肠 (3)	上皮, 表面, 细胞质 (1/3 组织, 1+ 染色强度), 基底膜上皮(1/3 组织, 1+ 染色强度)
食管 (3)	无
心脏 (3)	无
肾脏 (3)	肾小管 (2+ 染色强度)
肝脏 (3)	无
肺 (3)	支气管上皮(2/3 组织, 1+ 染色强度)
间皮细胞 (3)	无
卵巢 (3)	无
胰腺 (3)	Duct 上皮(1/3 组织, 1+ 染色强度)
甲状旁腺 (3)	无
外周神经 (3)	无

垂体 (3)	内分泌细胞, 细胞质 (3+ 染色强度)
前列腺 (3)	P前列腺 (1/3 组织, 1+ 染色强度)
唾液腺 (3)	无
骨骼肌 (3)	无
皮肤 (3)	基底膜上皮
小肠 (3)	基底膜上皮, 细胞质 (1/3 组织, 1+ 染色强度)
脾脏 (3)	无
胃 (3)	无
睾丸 (3)	无
胸腺 (3)	无
甲状腺 (3)	无
扁桃体 (3)	鳞状上皮 (1+ 染色强度)
子宫 (3)	上皮, 表面 (1+ 染色强度)

所有报告的染色组织均为膜染色, 除非另外说明。每种组织类型的所有 3 个标本均有同样的染色强度, 除非另外说明。

【产品性能指标】胃

临床比对研究

曲妥单抗的安全性和有效性在临床研究 ToGA 中得以证实 (37,38)。在 ToGA 中, 3803 例患者进行了 HER2 蛋白表达检测的入组检测。该临床研究同时采用 IHC 方法 (HercepTest™, Dako) 和 FISH 方法 (HER2 FISH (pharmDx™, Dako) 检测 HER2 基因的表达水平。共获得 3665 例有效结果。

ToGA 研究显示按照试验方案设定的标准, 样本经由 IHC 或 FISH 检测, 22.1% 的进展期胃癌患者 HER2 阳性。

这项研究是 HER2 阳性患者开放标记, 随机, 多中心 III 期临床, 患者为不能手术的晚期癌症, 复发性及/或转移性胃腺癌或胃食管连接处癌患者。

在 ToGA 实验中, HER2 阳性被定义为 IHC 阳性 (3+) (HercepTest™, Dako) 及/或 HER2 FISH (HER2/CEN17 \geq 2.0) 阳性 (HER2 FISH pharmDx™ Kit, Dako)。

患者入组后, 被随机分配接受化疗 (5-FU 或卡培他滨以及顺铂) 或化疗加曲妥单抗治疗。本研究的一级研究终点为患者存活 (OS)。

在这项研究中, 共 594 例患者被随机选中, 584 例患者接受了研究用药物, 并参加最终分析数据。化疗联合曲妥单抗的一级研究终点统计结果显示优于单纯化疗的治疗结果。OS 中位数从 11.1 个月增加至 13.8 个月 ($p = 0.0046$), 危险度为 0.74 (95% 的置信区间为: 0.60-0.91)。有关 OS 的 Kaplan-Meier 曲线结果见图 1。

生存概率

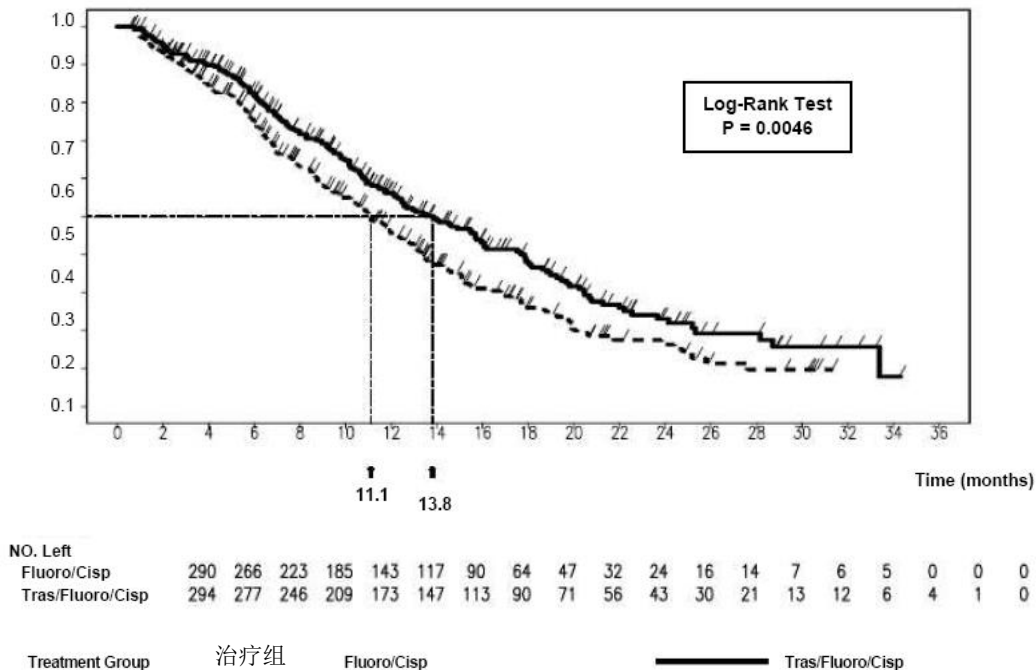


图1. OS的Kaplan-Meier曲线 (n = 584)

一旦数据可用，预先指定的分析亚组通过HER2蛋白表达状态可以进行相应的分析。根据IHC评分的结果，两个新的HER2蛋白亚组已经明确定义：

第1组（“低表达 HER2 表达组”）： IHC 0/FISH+ and IHC 1+/FISH+ (n=131)

第2组（“高表达 HER2 表达组”）： IHC 2+/FISH+ 和 IHC 3+ (FISH+ 或 FISH- 或 FISH 没有结果 (n=446)

对“HER2高表达组”（n=446）的OS的初步分析进行多重比较后发现联合用药组的获益更为明显。化疗联合曲妥单抗的患者的平均OS增加至16.0个月，而单纯化疗的患者仅11.8个月。该分析的危险度降低至0.65（95%CI:0.51-0.83）。有关OS的Kaplan-Meier曲线“HER2蛋白高表达组”见图2。

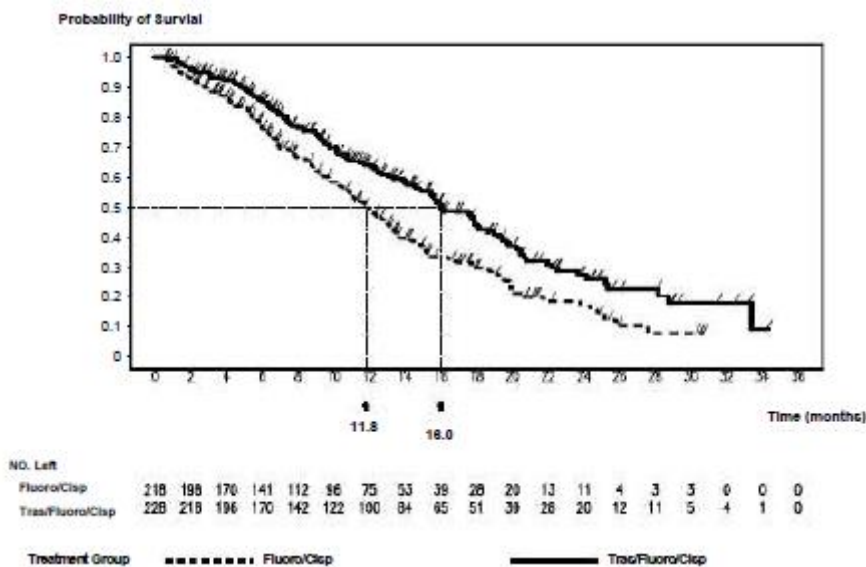


图2. “HER2蛋白高表达组” OS的Kaplan-Meier曲线 (n = 446) .

ToGA试验表明，IHC和FISH都能够有效预测化疗联合曲妥单抗的疗效，统计分析结果表明，HER2蛋白 (IHC2+/FISH+ 和 IHC3+)高表达患者治疗获益更多，这可以通过该蛋白是曲妥单抗的靶蛋白来解释。有关ToGA试验更详细的资料，请参阅曲妥单抗说明书。

重复性

批内重复性

在同一实验室内对 3 个不同 IHC 强度标本进行了重复染色。每个标本采用随机双盲法重复染色 3 次，在自动染色系统上进行。所有标本达到 100%的重复性结果。

另一组批内重复性在同一实验室对 11 个不同 IHC 评分的标本进行分析。每个标本重复 3 次，用手工染色。所有标本得到 100%的重复性结果。

批间和室间重复性

HercepTest™检测了 60 例取自胃或胃食管结合处的不同的胃癌标本，这些标本为手术切除及活检标本，检测在不连续的 5 天里在 3 个研究中心进行。60 例样本均匀分布在三个 HER2 状态，由 6 位病理学家进行了总共 2040 例 HER2 评分。

日间一致性（阴性，不确定，阳性）范围从83.1%~98.3%。60例样本中的47例符合率为 ≥ 90%。由表11可见，3个研究中心日间一致性符合率分别为91.2%，92.5% 以及 92.5%。

室间一致性结果为82.7%，75.0% 以及 88.0%。根据Fisher检验，不同中心之间结果没有差异。

每个研究中心的不同病理学家之间的评分一致性分别为88.0%，83.6% 以及 81.0%（表 13）。

结论是，日间、室间及不同人员评分之间具有很好的一致性。

表 11. 每天之间整体一致性百分数 – 60 例次比较中的 12 例次

		观察者 1 一致性 CI95 LL ¹		观察者 2 一致性 CI95 LL ¹		平均 一致性
中心 1	第 1 天 vs 第 2 天	85.0	74.4	93.3	84.9	91.2
	第 3 天 vs 第 4 天	93.3	84.9	93.3	84.9	
中心 2	第 1 天 vs 第 2 天	95.0	87.3	83.1	72.0	92.5
	第 3 天 vs 第 4 天	96.7	89.7	95.0	87.3	
中心 3	第 1 天 vs 第 2 天	90.0	80.5	91.7	82.7	92.5
	第 3 天 vs 第 4 天	96.7	89.7	91.7	82.7	

¹CI95LL: 95%置信区间下限

表 12. 中心之间整体一致性以百分数表示

		一致性	CI95 LL ¹	平均 一致性
中心1 vs 中心2	第 1 天 vs 第 1 天	83.3	72.4	82.7
	第 2 天 vs 第 2 天	85.0	74.4	
	第 3 天 vs 第 3 天	85.0	74.4	
	第 4 天 vs 第 4 天	81.7	70.5	
	第 5 天 vs 第 5 天	78.3	66.7	
中心1 vs 中心3	第 1 天 vs 第 1 天	80.0	68.6	75.0
	第 2 天 vs 第 2 天	73.3	61.2	
	第 3 天 vs 第 3 天	78.3	66.7	
	第 4 天 vs 第 4 天	68.3	55.9	
	第 5 天 vs 第 5 天	75.0	63.0	

中心2 vs 中心3	第 1天vs 第 1天	88.3	78.5	88.0
	第 2天vs 第 2天	86.7	76.4	
	第 3天vs 第 3天	90.0	80.5	
	第 4天vs 第 4天	86.7	76.4	
	第 5天vs 第 5天	88.3	78.5	

¹CI95LL: 95%置信区间下限

表 13. 不同观察人员之间一致性百分比

		一致性 CI 95 LL ¹		平均一致性
中心 1	第 1 天	91.7	82.7	88.0
	第 2天	91.7	82.7	
	第 3天	93.3	84.9	
	第 4天	83.3	72.4	
	第 5天	80.0	68.6	
中心2	第 1天	86.4	76.0	83.6
	第 2天	83.3	72.4	
	第 3天	83.3	72.4	
	第 4天	83.3	72.4	
	第 5天	81.7	70.5	
中心3	第 1天	80.0	68.6	81.0
	第 2天	78.3	66.7	
	第 3天	80.0	68.6	
	第 4天	78.3	66.7	
	第 5天	90.0	80.5	

¹CI95LL: 95%置信区间下限

【注意事项】

1. 供体外诊断使用。
2. 仅能由专业人员使用。
3. 本产品中含有叠氮化钠 (NaN₃) ——剧毒性纯净化合物。虽然在本产品中的浓度很低不能归为危险品，但是叠氮化钠可与铅及铜管道发生反应，生成极具爆炸性的金属叠氮化合物。请使用大量清水冲洗处理，以防在管道中形成金属叠氮化合物 (21)。
4. HercepTest™过氧化物酶阻断剂，含有3%的过氧化氢。可根据需要向专业用户提供其安全性数据表。
5. HercepTest™兔抗人HER2蛋白抗体，HercepTest™显色剂，以及HercepTest™阴性对照试剂，均含有动物源性材料。
6. 任何生物来源的产品，在使用前均需进行适当的处理。
7. 质控玻片和标本，在固定前后，以及所有与这些材料接触的材料，均应该进行适当的处理，因为这些材料可能会导致病原体的传播，应该按照相应的注意事项处理 (22)。绝对不能用口通过移液管移取试剂，避免皮肤和粘膜接触到试剂和标本。如果试剂接触到某些敏感区，应该用大量的水清洗。
8. 应该最大限度地减少试剂微生物污染，不然会导致非特性染色的增加。
9. 未能按照指定的孵育时间，温度，或方法操作，可能会导致错误的染色结果。如果

在超过60°C的环境中干燥超过1个小时，可能会导致膜特异性HER2蛋白免疫反应的下降或缺失（17）。

10. 该试剂已经进行了最佳浓度的稀释。进一步的稀释可能会导致抗原染色的缺失。
11. 所有的试剂配方均专用于本试剂盒。为了进行指定的检测，无须使用替代产品。
12. HercepTest™显示剂及HercepTest™DAB色素原如暴露于强光下会产生不良影响。不要将相应的成分存储于在强光下，比如阳光直射的地方。
13. 为正确解释从胃腺癌，包括胃食管结合部癌上活检标本的HercepTest™染色结果，推荐每一簇至少有5个肿瘤细胞染色。由至少5个肿瘤细胞染色成簇，构成了5个相互连接的HER2蛋白染色阳性的肿瘤细胞。
14. 由于胃癌活检标本的异质性，在多块活检组织上进行IHC染色（7-8）就显得尤为重要，这些活检组织最好来自于肿瘤的不同位置，从而获得可靠的结果。
15. 穿戴适当的个人防护装置，避免与眼睛和皮肤接触。
16. 未使用的溶液应该按照当地，州，或联邦法律法规处理。
17. 专业用户使用的安全数据清单必要时可以申请。
18. HercepTest™DAB色素原，包含1-5%的二氨基联苯胺，四盐酸盐（联苯-3, 3', 4, 4'-二氨基联苯胺，盐酸盐），并被标记为：
 - 有害产品
 - 危险及安全防护要求**
 - R40 有限证据显示有致癌性
 - R43 可能会导致皮肤接触的过敏
 - R68 能会导致难以逆转的副作用。
 - R35 材料及其容器必须按照安全的方法处理。
 - R36/R37 穿戴合适的防护服和手套。
19. 石蜡的残留可能会导致假阴性的结果。

根据一般规律，低于18岁的人不应该使用本产品。用户必须仔细阅读相应的使用方法，熟悉产品的危险性，以及必须的安全说明（按照欧共体指令94/33EC）。有关更详细的资料，请参阅材料安全数据清单（MSDS）。

美国：3, 3'-二氨基联苯（DAB）可能吸入有害，如果吞服或与皮肤接触，可能会导致损伤。该材料对眼睛和皮肤有刺激。如果导致皮肤接触，应该用肥皂和足量的水进行冲洗。

提示：尽管二氨基联苯结构上与二胺基联苯有关，并没有证据显示二氨基联苯具有致癌性。有关处理问题，请于当地管理部门联系。

【参考文献】

1. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao Y-C, Chen E, Gray A, McGrath J, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230:1132
2. King CR, Kraus MH, Aaronson SA. Amplification of a novel v-erbB-related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 1985; 229:974
3. Semba K, Kamata N, Toyoshima K, Yamamoto T. A v-erbB-related protooncogene, c-erbB-2, is distinct from the c-erbB-1/epidermal growth factor-receptor gene and is amplified in a human salivary gland adenocarcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:6497
4. Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, et al. Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 1986; 319:230
5. Schechter AL, Hung M-C, Vaidyanathan L, Weinberg RA, Yang-Feng TL, Francke U, et al. The neu gene: an erbB-homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor. *Science* 1985; 229:976
6. Bargmann CI, Hung M-C, Weinberg RA. The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. *Nature* 1986; 319:226
7. Natali PG, Nicotra MR, Bigotti A, Ventura I, Slamon DJ, Fendly BM, et al. Expression of the p185 encoded by HER2 oncogene in normal and transformed human tissues. *Int J Cancer* 1990; 45:457
8. Press MF, Cordon-Cardo C, Slamon DJ. Expression of the HER-2/neu proto-oncogene in normal human adult and fetal tissues. *Oncogene* 1990; 5:953
9. Lonardo F, Di Marco E, King CR, Pierce JH, Segatto O, Aaronson SA, et al. The normal erbB-2 product is an atypical receptor-like tyrosine kinase with constitutive activity in the absence of ligand. *New Biologist* 1990; 2:992
10. Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JBB, Henner D, Wong WLT, et al. Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:4285
11. Hudziak RM, Lewis GD, Winget M, Fendly BM, Shepard HM, Ullrich A. p185HER2 monoclonal antibody has antiproliferative effects in vitro and sensitizes human breast tumor cells to tumor necrosis factor. *Mol Cell Biol* 1989; 9:1165
12. Lewis GD, Figari I, Fendly B, Wong WL, Carter P, Gorman C, et al. Differential responses of human tumor cell lines to anti-p185HER2 monoclonal antibodies. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37:255
13. Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim Y-M, Mendelsohn J. Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin™) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res* 1998; 58:2825
14. a. Medical Laboratories – Particular requirements for quality and competence, ISO 15189:2003
b. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57CFR7163, February 28, 1992
15. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and practice of histotechnology*. St. Louis: The C. V. Mosby Company; 1980

16. Kiernan JA. *Histological and histochemical methods: theory & practice*. New York: Pergamon Press 1981
17. Lundgaard Hansen B, Winther H, Moller K. Excessive section drying of breast cancer tissue prior to deparaffinisation and antigen retrieval causes a loss in HER2 immunoreactivity, *Immunocytochemistry* 2008;6,119-22.
18. DakoCytomation California Inc., Data on file
19. Key M. *Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods*. Fourth Edition. Dako, Carpinteria, California; 2006
20. Leong AS-Y, Milios J, Leong FJ. Epitope retrieval with microwaves. A comparison of citrate buffer and EDTA with three commercial retrieval solutions. *Appl Immunohistochem* 1996; 4:201
21. Department of Health, Education and Welfare, National Institutes for 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
22. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI document M29-A3 [ISBN 1-56238-567-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898 USA, 2005
23. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Quality assurance for immunocytochemistry; Approved guideline*. CLSI document MM4-A (1-56238-396-5) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA; 1999
24. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, Wilbur DC, Herman GE, Jaffe ES, et al. Special report: quality control in immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol* 1989; 92:836
25. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: Part I. The technique and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767
26. Omata M, Liew C-T, 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; 73:626
27. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194
28. Press MF, Hung G, Godolphin W, Slamon DJ. Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples: potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression. *Cancer Res* 1994; 54:2771
29. Tubbs RR, Gephardt GN, Petras RE. *Specimen processing and quality assurance*. Atlas of immunohistology. Chicago: Amer Soc Clin Pathol Press; 1986: 16
30. Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase techniques. A practical approach to tumor diagnosis*. Chicago: Amer Soc Clin Pathol Press; 1986
31. Jørgensen JT. Targeted HER2 Treatment in Advanced Gastric Cancer. *Oncology* 2010;78:26-33..
32. Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, Kapanen AI, Tomola S, Soini Y et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase II alpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005;16: 273-278.
33. Matsui Y, Inomata M, Tojigamori M, Sonoda K, Shiraishi N, Kitano S. Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 overexpression by an anti-HER2 antibody in a murine model. *Int J Oncol* 2005; 27: 681-685.

34. Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yasuno H, Moriya Y, Mor K, Tanaka Y. Antitumor activity of trastuzumab in combination with chemotherapy in human gastric cancer xenograft models. *Cancer Chemother Pharmacol* 2007; 59: 795-805.
35. Kim SY, Kim HP, Kim YJ, Oh DY, Im S-A, Lee D et al. Trastuzumab inhibits the growth of human gastric cancer cell lines with HER2 amplification synergistically with cisplatin. *Int J Oncol* 2008; 32: 89-95.
36. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomized controlled trial. *Lancet* 2010.
37. Bang Y, Chung J, Xu J, Lordick F, Sawaki A, Lipatov O et al. Pathological features of advanced Gastric Cancer (GC): Relationship to human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) positivity in the global screening programme of the ToGA trial. *J Clin Oncol* 2009; 27:15s (suppl; abstr 4556).
38. Van Cutsem E, Kang YK, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, et al. Efficacy results from the ToGA trial: a phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer. (presentation ASCO 2009).
39. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopath* 2008;52:797-805.

【基本信息】

注册人/生产企业名称: Dako Denmark A/S

住所: Produktionsvej 42, DK-2600 Glostrup, Denmark

生产地址: Produktionsvej 42, DK-2600 Glostrup, Denmark

联系电话: +45 44 85 95 00 传真: +45 44 85 95 95

售后服务单位名称: 安捷伦科技(中国)有限公司

联系电话: 8008203278

代理人的名称: 安捷伦科技(中国)有限公司

住所: 北京市朝阳区望京北路3号研发中心(一期)3层3-1至3-3室

联系电话: 8008203278 传真: 010-64392765

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注进 20173400640

【说明书核准日期及修改日期】

核准日期: 2017-3-8

【标识的解释】

 目录号	 温度范围	 批号	 易碎: 轻拿轻放
 体外诊断医疗设备	 保存于暗处	 有效期内使用	 有害成分
 参见使用说明书	 可供测试的数目	 制造商	