

Leica HER2 FISH System - 30 Test Használati útmutató

A Leica Biosystems BOND-MAX és a BOND-III System való használatra.

TA9217 egy fluoreszcens *in situ* hibridizálásra tervezett termék, mely 30 tesztminta (30 metszet LSI HER2/CEP17 Dual Probe festéssel) megfestésére alkalmas.



Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



Leica Biosystems Canada
71 Four Valley Drive
Concord, Ontario L4K 4V8
Canada
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc
1700 Leider Lane
Buffalo Grove IL 60089
USA
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne
Pty Ltd
495 Blackburn Road
Mt Waverley VIC 3149
Australia
☎ +61 2 8870 3500

Tartalom

| | |
|---|-----------|
| A felhasználás célja | 3 |
| <i>In vitro</i> diagnosztikai használatra | 3 |
| A szükséges betanítás..... | 3 |
| Összefoglaló és magyarázat | 3 |
| Háttér..... | 3 |
| Klinikai konkordancia – összefoglaló BOND-MAX System | 4 |
| Klinikai konkordancia – összefoglaló BOND-III System | 4 |
| Az eljárás alapjai | 5 |
| Biztosított összetevők..... | 5 |
| Használati útmutató | 5 |
| Tárolás és lejárát..... | 5 |
| A minta előkészítése..... | 5 |
| Figyelmeztetések és óvintézkedések | 6 |
| A beállítás menete | 6 |
| A. Nem biztosított reagensek | 6 |
| B. Nem biztosított felszerelés..... | 6 |
| C. Módszertan | 7 |
| D. Bond enzim előkezelés..... | 7 |
| E. Alapértelmezett festési protokoll | 7 |
| F. Az eljárás lépései..... | 7 |
| G. Metszetelrendezés..... | 8 |
| Jelértékelés és -számlálás | 9 |
| Javasolt eljárás a LSI HER2 : CEP17 arány meghatározására | 10 |
| Leica HER2 FISH System - 30 Test értelmezési útmutató | 11 |
| Értékelési táblázat | 12 |
| Minőségellenőrzés | 13 |
| Korlátozások | 13 |
| A. Általános korlátozások..... | 13 |
| B. A termék speciális korlátozásai | 14 |
| Klinikai konkordancia: Leica HER2 FISH System - 30 Test vs Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit - Emlő | 14 |
| A 2x2-es konkordancia eredményei BOND-MAX System - Emlő..... | 15 |
| A 2x2-es konkordancia eredményei BOND-III System - Emlő | 16 |
| A Leica HER2 FISH System - 30 Test klinikai konkordanciája az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit rendszerrel összehasonlítva - Gyomor | 17 |
| A BOND-MAX System 2x2-es konkordancia eredményei - Gyomor | 17 |
| Precíziós tesztelés – BOND-MAX System | 18 |
| A. A festésen belüli precizitás tesztelése | 18 |
| B. A műszerek közti precizitás tesztelése | 18 |
| C. A festések közti precizitás tesztelése..... | 18 |
| D. A laboratóriumok közti precizitás tesztelése | 18 |
| E. A vizsgálok közti precizitás tesztelése | 18 |
| F. Tételenkénti precizitás | 19 |
| Precíziós tesztelés – BOND-III System | 19 |
| G. A festésen belüli precizitás tesztelése | 19 |
| H. A műszerek közti precizitás tesztelése | 19 |
| I. A festések közti precizitás tesztelése..... | 19 |
| J. A laboratóriumok közti precizitás tesztelése | 19 |
| K. A vizsgálok közti precizitás tesztelése | 20 |
| L. Tételenkénti reprodukálhatóság | 20 |
| A vizsgálat robusztussága | 20 |
| Hibaelhárítás | 22 |
| Referenciák | 24 |
| Licencszerződés | 25 |

A felhasználás célja

***In vitro* diagnosztikai használatra**

A Leica HER2 FISH System - 30 Test arra lett tervezve, hogy a HER2/neu génamplifikációt detektálja fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH) formalinnal fixált, paraffin beágyazású humán emlőrák és gyomor adenocarcinoma (beleértve a gastrooesophagealis átmenetet is). A Leica HER2 FISH System - 30 Test használata olyan beteget kiértékelésének támogatására indikált, akiknél Herceptin® (trastuzumab) kezelést terveznek (lásd a Herceptin csomagolási címkéjét). A Leica HER2 FISH System - 30 Test nem használható emlőrák szűrésére vagy diagnosztikájára. Figyelembe kell venni minden más egyéb klinikai információt is (pl. a tumor mérete, az érintett nyirokcsomók száma és a szteroidreceptorok állapota). Tilos az emlőrákos betegek kezelését kizárólag a HER2 génamplifikációs állapot alapján tervezni.

Megjegyzés: a Herceptin klinikai vizsgálatra az összes beteget kutatási immun-citokémiai Klinikai Vizsgálóeljárás (Clinical Trial Assay, CTA) használatával választották ki. Az ebben a kutatásban való részvételre kiválasztott betegek egyik sem használ Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszert. A Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszer egy független mintakészlet segítségével össze lett hasonlítva az Abbott Molecular PathVysion® HER-2 DNA Probe Kit vizsgálattal, és a Klinikai konkordancia összefoglalóban jelzett elfogadható konkordancia eredményeket mutatta. A Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszer eredményei és a klinikai kimenet közti aktuális korreláció még nem lett megállapítva.

A Herceptin® előrehaladott gyomorrák (ToGA) klinikai vizsgálat minden páciensét Dako HercepTest használatával választották ki. Az ebben a vizsgálatban való részvételre kiválasztott betegek egyike sem használ Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszert. A Leica HER2 FISH System - 30 Test egy független mintakészlet segítségével össze lett hasonlítva az Abbott Molecular PathVysion® HER-2 DNA Probe Kit vizsgálattal, és a Klinikai konkordancia összefoglalóban jelzett elfogadható konkordancia eredményeket mutatta. A Leica HER2 FISH System - 30 Test eredményei és a klinikai kimenet közti aktuális korreláció még nem került megállapításra.

* A Herceptin® a Genentech, Inc. és a F. Hoffmann-La Roche Ltd. védjegye. PathVysion az Abbott Molecular Inc védjegye. Minden jog fenntartva. Licenc hatálya alatt használható.

A szükséges betanítás

Leica Biosystems minden felhasználó számára biztosítja a minta előkészítéséhez, a vizsgálat elvégzéséhez és a HER2 gén FISH tesztjének értelmezéséhez szükséges oktatást.

Összefoglaló és magyarázat

Háttér

A HER2 gén (más néven neu vagy c-erbB2) a 17-es kromoszóma hosszú karján, a 17q11-12 régióban helyezkedik el (1). Mind a HER2 gén, mind az általa kódolt 185 kD-os fehérje jelentős szerepet játszik emlőrákos betegekben a malignus transzformációban és a tumor progressiójában (2).

HER2 prognosztikai markerként funkcionál, a génamplifikációhoz és a fehérje túlzott expressziójához a betegség fokozott kiújulási aránya és magasabb mortalitás kapcsolódik. HER2 prediktív markerként is szolgál a kiválasztott szisztémás kemoterápiánál és a megcélzott kezelésnél (3). A HER2 gén amplifikációja rossz prognosztikai jelnek tekinthető a nodális pozitív emlőrákos esetekben (4–8). Emellett egy vizsgálat arra utal, hogy a kemoterápiát kapott betegekben a HER2 prognosztikai értéke magasabb (7). A beteg tumormentességének és általános kilátásainak a megítélésekor azonban más egyéb klinikai információt is (pl. a tumor mérete, az érintett nyirokcsomók száma és a szteroidreceptorok állapota) figyelembe kell venni.

A HER2 daganatfehérjének az emlőrákos sejtekben talált génamplifikáció miatti fokozott expressziója arra utal, hogy a HER2 egy antitesten alapuló terápia célpontja lehet (3) - a ToGA vizsgálat eredményei egyértelműen jelzik, hogy gyomorrák esetén a kemoterápia mellett alkalmazott Herceptin® hatékony kezelést jelent, mely javítja a HER2 pozitív gyomorrák általános kilátásait (9). A Herceptin (trastuzumab) egy olyan humán monoklonális antitest

(10), amely nagy affinitással kötődik a HER2 daganatfehérjéhez, és amelyről kimutatták, hogy gátolja a HER2 daganatfehérjét fokozottan expresszáló humán tumorsejtek proliferációját mind *in vitro*, mind *in vivo* (11-13). A Herceptin kifejlesztése óta a HER2 gén és a fehérje észlelése az emlőrákok értékelésének alapvető eszközévé vált, mely mind a terápia kiválasztásában, mind az ezt követő betegútban jelentős szerepet játszik (14,15).

AFISH technikával mind interfázisú, mind metafázisú emlőkarcinóma sejtvonalakban kimutatható a HER2 génamplifikáció (16-19). A HER2 génamplifikáció mennyiségi kiértékeléséhez a FISH a HER2 génamplifikáció mértékét közvetlenül a daganatsejtekben értékeli ki. A szövetek jellegzetes morfológiája és az onkogén másolatok térbeli eloszlása az egyedüli, tenyésztetlen elsődleges emlőkarcinóma sejtekben megtartott. A 17-es kromoszóma számának eltérései (aneuszómia) gyakran előfordul emlőrákos sejtekben. Előfordulhat a kromoszómák törése vagy fölös másolódása (polisómia). Ezeknek a kromoszómaváltozatoknak döntő hatásuk van a HER2 génamplifikációs állapot értelmezésére és rögzítésére. Emiatt a 17-es kromoszóma másolatainak megszámlálása a HER2 vonatkozásában kritikus fontosságú (4).

A Leica HER2 FISH System - 30 Test tartalma: LSI HER2 DNS minta, mely egy 226 Kb SpectrumOrange™, közvetlenül megjelölve a HER2 génlokuszra (17q11.2-q12) specifikus fluoreszcens DNS mintával, és CEP17 DNA minta, mely egy 5,4 Kb SpectrumGreen™, közvetlenül megjelölve a 17-es kromoszóma centromer régióján (17p11.1-q11.1) található alfa szatellit-DNS-re specifikus fluoreszcens DNS mintával. A mintaoldatot speciálisan a BOND-MAX és BOND-III System való használatra alakították ki és ezzel validálták, emiatt módosítása vagy manuális mérésben való felhasználása tilos.

Klinikai konkordancia – összefoglaló BOND-MAX System

A Leica HER2 FISH System - 30 Test arra lett kifejlesztve, hogy teljesen automatizált alternatívát nyújtson a HER2 génamplifikációs állapot meghatározására jelenleg használt módszerekkel szemben. A Leica HER2 FISH System - 30 Test teljesítményét BOND-MAX System egy független vizsgálat során értékelték, melyben a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszert és az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit vizsgálat 300 emlőrákos mintában és 109 gyomor adenocarcinomában (beleértve a gastrooesophagealis átmenetet is). Ezen daganatminták egyike sem származott olyan betegből, aki a Herceptin klinikai vizsgálatban részt vett. Az emlő szövet eredményei 99,33%-os konkordanciát mutattak a 2x2-es analízisben (95% konfidenciaintervallum, 97,61–99,92%). A gyomor adenocarcinómák eredményei (beleértve a gastrooesophagealis átmenetet) 98,17%-os konkordanciát mutattak a 2x2-es analízisben (95% konfidenciaintervallum, 93,53–99,78%). A konkordancia adatok egyben azt is jelzik, hogy a Leica HER2 FISH System - 30 Test pozitív eredménye nagy valószínűséggel egybeesik az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit vizsgálat pozitív eredményével. A Leica HER2 FISH System - 30 Test eredménye negatívnak értékelendő a HER2 génamplifikációra, ha a HER2:CEP17 génarány kisebb, mint 2,0; és pozitívnak értékelendő, ha a HER2:CEP17 génarány nagyobb vagy egyenlő, mint 2,0. A határeseteket, ahol a HER2:CEP17 génarány 1,8 és 2,2 között van, óvatosan kell kezelni. Ilyenkor további 20 sejtmagot meg kell vizsgálni, és újra ki kell számolni az arányt.

Klinikai konkordancia – összefoglaló BOND-III System

A Leica HER2 FISH System - 30 Test arra lett kifejlesztve, hogy teljesen automatizált alternatívát nyújtson a HER2 génamplifikációs állapot meghatározására jelenleg használt módszerekkel szemben. Független vizsgálatban értékelték ki a Leica HER2 FISH System - 30 Test teljesítményét a BOND-III System daganatfehérje fokozott expressziójának meghatározásában, melynek során a Leica HER2 FISH System - 30 Test eredményeit az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit vizsgálat eredményeivel hasonlították össze 300 emlőtumor mintán. Ezen daganatminták egyike sem származott olyan betegből, aki a Herceptin klinikai vizsgálatban részt vett. Az eredmény 99,67%-os konkordanciát mutatott a 2x2-es elemzésben (95%-os konfidenciaintervallum, 98,16–99,99%). A konkordancia adatok egyben azt is jelzik, hogy a Leica HER2 FISH System pozitív eredménye nagy valószínűséggel egybeesik az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit vizsgálat pozitív eredményével. A Leica HER2 FISH System - 30 Test eredménye negatívnak értékelendő a HER2 génamplifikációra, ha a HER2:CEP17 génarány kisebb, mint 2,0; és pozitívnak értékelendő, ha a HER2:CEP17 génarány nagyobb vagy egyenlő,

mint 2,0. A határeseteket, ahol a HER2:CEP17 géarány 1,8 és 2,2 között van, óvatosan kell kezelni. Ilyenkor további 20 sejtmagot meg kell vizsgálni, és újra ki kell számolni az arányt.

Az eljárás alapjai

A Leica HER2 FISH System - 30 Test tartalmazza a formalinnal fixált, paraffin beágyazású szövetek fluoreszcens *in situ* hibridizációján alapuló festéséhez szükséges összetevőket. A megfelelő előkészítés után a használatra készen szállított LSI HER2/CEP17 Dual Probe mintával inkubálva, és a megfelelő mértékű lemosást alkalmazva, a szövetmetszeteket dehidrálni, majd DAPI használatával rögzíteni kell. Az eredményeket fluoreszcens mikroszkópiával, a megfelelő hullámhosszúságú, ajánlott szűrők használata mellett kell értelmezni.

A Leica HER2 FISH System - 30 Test kizárólag a BOND-MAX és a BOND-III System használható.

Biztosított összetevők

Az alábbiakban felsorolt anyagok (1. táblázat) 30 festés elvégzésére elegendőek (30 metszet LSI HER2/CEP17 Dual Probe használatával festve).

| | |
|---|--|
| LSI HER2/CEP17 Probe 6,6 mL | Használatra készen szállított LSI HER2/CEP17 Dual Probe. <60%-os (v/v) formaldehid. |
| Post Hybridization Wash 2 9 mL | Használatra készen szállított hibridizáció utáni mosófolyadék. <50%-os (v/v) formaldehid. |
| BOND Enzyme Concentrate 2 1 mL | Proteináz-K oldat, 1,7 mg/mL. |
| BOND Enzyme Diluent 65 mL | Enzim oldószer. |
| BOND Open Container 3 x 7 mL | BOND Open Container használt Enzyme 5. |

1. táblázat A Leica HER2 FISH System - 30 Test összetevői

További biztonsági információkért lásd az egyedi biztonsági adatlapokat a www.LeicaBiosystems.com/TA9217-IFU oldalon.

Használati útmutató

Minden mellékelt reagens speciálisan ehhez a vizsgálathoz lett kialakítva, a tételszámok pedig minden egyes Leica HER2 FISH System - 30 Test esetén egyediek. Helyettesítések esetén a vizsgálat nem hiteles.

Tárolás és lejárát

Tárolás 2–8 °C-on. Ne fagyassa le. Használat után azonnal vissza kell helyezni a 2–8 °C-os hőmérsékletre. Az ettől való eltérés esetén a vizsgálat nem hiteles. Ügyeljen rá, hogy a Leica HER2 FISH System - 30 Test csak a lejárati dátumon belül legyen felhasználva. A Leica HER2 FISH System - 30 Test szennyeződésére és/vagy instabilitására utaló jel az oldat zavarossá válása (kivéve a minta oldatnál) és szag megjelenése. A fentiekől eltérő tárolási körülményeket a felhasználónak kell ellenőrizni.

A minta előkészítése

Minden minta esetén a szokásos szövetfeldolgozási eljárásokat kell használni (20). Javasoljuk, hogy ezeket a szöveteket formalin alapú fixálóval készítsék elő, majd a rutin feldolgozás után ágyazzák be paraffinba. A kivágott metszetekből például 3–4 mm vastag blokkokat kell képezni, majd 18–24 órán át 10% semleges-pufferelt formalinban kell fixálni. A szöveteket alkohollal

dehidrálni kell, majd xilennel tisztítani, végül maximum 60 °C-on tartva olvasztott paraffinba kell ágyazni. A szövetszövetmintákból 4–6 µm-es metszeteket kell készíteni.

A tárgylemezre (BOND Plus Slides, termékkód: S21.2113 vagy Apex BOND Slides termékkód: 3800040) rögzített szövetszöveteket 2–8 °C-on max. 12 hónapig lehet tárolni. A metszést követően javasolt a metszetek 1 órás inkubálása 60 °C-on. A fluoreszcens jel megőrzése és az elhalványulás megelőzése érdekében a festett metszeteket -20 °C-on kell tárolni. Elemzés előtt hagyja, hogy a metszetek felvegyék a szobahőmérsékletet.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Kizárólag szakember általi felhasználásra.

A termék veszélyes összetevőket tartalmaz, és magzatkárosító hatása lehet.

Alapvető előírás, hogy 18 évnél fiatalabb személy ezzel a termékkel nem dolgozhat. A felhasználóknak részletesen el kell magyarázni a munka menetét, a termék veszélyes jellemzőit, valamint a szükséges biztonsági utasításokat.

A mintákat (mind rögzítés előtt, mind utána) és a mintákkal érintkező anyagokat potenciálisan fertőzések átvitelére képes anyagokként kell kezelni, és a megfelelő rendszabályok betartása mellett kell őket ártalmatlanítani.

Tilos a reagensek szájjal történő pipettázása! A reagensek és minták bőrrel vagy nyálkahártyával való érintkezését el kell kerülni. Ha reagens vagy minta érzékeny területtel kerül érintkezésbe, az érintett területet bő vízzel le kell mosni. Ilyen esetben forduljon orvoshoz. A potenciálisan mérgező összetevők ártalmatlanításával kapcsolatban forduljon az állami vagy helyi szabályozószervekhez.

A reagensek mikrobiológiai szennyeződését minimalizálni kell, ellenkező esetben megnő a nem specifikus festődések száma.

A beállítás menete

A. Nem biztosított reagens

- BOND Dewax Solution (AR9222)
- BOND Epitope Retrieval Solution 1 (AR9961)
- BOND Wash Solution x10 Concentrate (AR9590)
- Az *in situ* hibridizáció alapuló vizsgálatoknál használatos szokványos oldatok (etilalkohol – abszolút és fokszámozott)
- Deszillált vagy ionmentesített víz
- DAPI utófestés
- Leica HER2 FISH Control Slides (TA9123)
- BOND Aspirating Probe Cleaning System (CS9100)

B. Nem biztosított felszerelés

- Pipetták (1–20 µL és 100–1000 µL mérésére alkalmas)
- Tárgylemez (BOND Plus Slides, termékkód: S21.2113 vagy Apex BOND Slides termékkód: 3800040)
- BOND-MAX (21.0051) vagy BOND-III (21.2201) rendszer
- BOND Universal Covertiles™ (S21.2001, S21.4583 vagy S21.4611)
- BOND Mixing Stations (S21.1971)
- BOND Slide Label & Print Ribbon (S21.4564)
- Fedőlapok
- Száritó, 60 °C tartására alkalmas
- Fluoreszcens mikroszkóp, (60–100x-as nagyítású objektív) megfelelő fényforrással. Vezessen nyilvántartást az izzó használatáról, és az élettartamának vége előtt cserélje ki az izzót. Ellenőrizze, hogy a lámpa megfelelően legyen beállítva.
- Megfelelő fluoreszcens szűrőkészlet (SpectrumOrange – gerjesztési csúcs 559 nm-nél, emissziós csúcs 588 nm-nél, SpectrumGreen™ – gerjesztési csúcs 497 nm-nél, emissziós

csúcs 524 nm-nél, és DAPI – gerjesztési csúcs 367 nm-nél, emissziós csúcs 452 nm-nél). A Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszerrel való használatra optimalizált többsávos fluoreszcens mikroszkópszűrő készletek a legtöbb mikroszkóp modellhez kaphatók. A Leica HER2 FISH System - 30 Test esetén javasolt szűrőkészletek a következők: DAPI/9-narancs kettős hullámszűrő, DAPI/zöld hullámszűrő, zöld/narancs (V.2) hullámszűrő, és DAPI/zöld/narancs (V.2) hármasszűrő.

C. Módszertan

- A módszertanba való belekezdés előtt a felhasználónak el kell sajátítania az automatizált *in situ* fluoreszcens technikákat.
- Minden, LSI HER2/CEP17 Dual Probe festésű minta esetén el lehet végezni a HER2 és a 17-es kromoszóma centromer jeleinek elemzését is. A HER2 és a 17-es kromoszóma jelek aránya lehetővé teszi a minta kvantitatív elemzését is, mely negatív (nincs génamplifikáció) vagy pozitív (van génamplifikáció) eredményt ad. A határeseti értékeket (1,8–2,2) óvatosan kell kezelni. Ilyenkor további 20 sejtmagot meg kell vizsgálni, és újra ki kell számolni az arányt.

D. BOND enzim előkezelés

A festés előtt hígítsa fel a BOND Enzyme Concentrate 2 oldatot 1:300 arányban a mellékelt BOND Enzyme Diluent oldattal az egyik mellékelt BOND nyitott tartályban. 10 metszet festéséhez például készítsen el 3 mL oldatot 10 µL BOND Enzyme Concentrate 2 és 2990 µL BOND Enzyme Diluent vegyítésével. Javasoljuk, hogy minden festés előtt frissen készítse el az enzimidatot, és festésenként minimum 900 µL mennyiséget használjon.

E. Alapértelmezett festési protokoll

Javasoljuk, hogy a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszert a 2. táblázatban ismertetett alapértelmezett festési protokoll szerint használja.

| Protokoll típusa | Protokoll neve |
|------------------|----------------------------|
| festés | *FISH Protocol A |
| Előkészítés | *Dewax |
| HIER | *HIER 25 min with ER1 (97) |
| Enzim | *Enzyme 5 for 25 min |
| Denaturálás | *D10 |
| Hibridizálás | *ISH Hybridization (12Hr) |

2. Táblázat: Alapértelmezett Leica HER2 FISH festési protokoll

F. Az eljárás lépései

Ezeket az utasításokat a BOND-MAX vagy BOND-III rendszer felhasználói kézikönyvével együtt kell olvasni. Minden egyes metszetenél új BOND Universal fedőlemezt kell használni.

Ezzel a teszttel nincsenek hitelesítve azok a BOND fedőlemezek, melyeket korábban immun-hisztokémiai vagy *in situ* hibridizációs festésnél alkalmaztak.

1. Ellenőrizze a BOND-MAX vagy BOND-III System, hogy az ömlesztett és veszélyes anyagokat tartalmazó tartályokban elegendő hely legyen a szükséges mennyiségű festési sor megfestéséhez.
2. Ellenőrizze, hogy a szükséges számú festési sorhoz elegendő etil-alkohol, desztillált vagy ionmentesített víz, BOND Dewax Solution, BOND Epitope Retrieval Solution 1, és BOND Wash Solution (10x-es hígításban) álljon rendelkezésre a tömeges reagenstartályokban.
3. Ellenőrizze, hogy tiszta BOND Mixing Station legyen beszerelve.
4. Kapcsolja be a BOND-MAX vagy BOND-III rendszert.
5. Kapcsolja be a BOND-MAX vagy BOND-III rendszerhez csatlakoztatott számítógépet.
6. Indítsa el a BOND programot.
7. Új Leica HER2 FISH System - 30 Test készlet esetén olvassa le a reagenstálca vonalkódját a kéziszkennelvel, hogy a rendszert bevigye a BOND reagenskönyvtárba

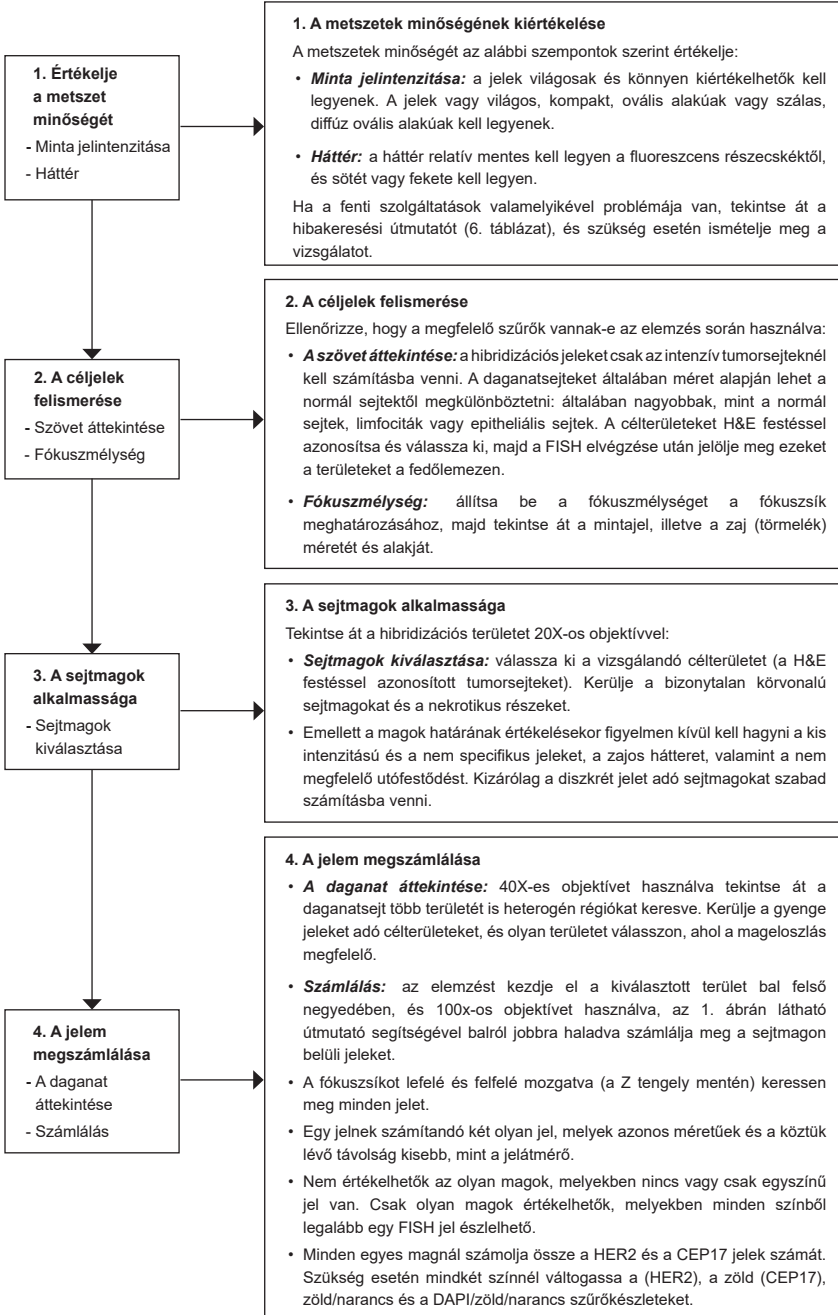
- (csak egy vonalkódot).
8. Készítse elő a BOND Enzyme 5 oldatot a mellékelt BONDnyitott tartályban 1:300 arányú hígítással. 10 metszetenél például adjon 10 µL BOND Enzyme Concentrate 2 oldatot 2990 µL BOND Enzyme Diluent oldathoz.
 9. Olvassa be a mellékelt BOND nyitott tartályt és regisztrálja a BOND Enzyme 5 oldatot.
 10. Menjen a Slide setup (metszetbeállítás) képernyőre, és kattintson az Add case (tartó hozzáadása) elemre.
 11. Adja meg az első tartó adatait. Ellenőrizze, hogy az adagolási térfogat 150 µL legyen, és előkészítési protokollnak *Dewax legyen kiválasztva. Kattintson az OK gombra.
 12. A Slide setup (metszetbeállítás) képernyőn válassza ki a tartót, majd kattintson az Add slide (metszet hozzáadása) elemre.
 13. Elsőként adjon hozzá betegből származó tesztmetszeteket. A szövet típusa Test tissue (teszt szövet) kell legyen.
 14. A festési módnál válassza a Single (egyszeres) lehetőséget.
 15. Válassza ki az ISH feldolgozás.
 16. Válassza ki a *LSIHER2/CEP17 Dual Probe – 30Test lehetőséget a mintalistából. A Protokollok fülön állítsa alapértelmezésre a megfelelő festési protokollt (*FISH Protocol A), HIER protokoll(*HIER25minwithER1(97)), EIERprotokoll(*Enzyme5for25min), denaturálás(*D10), hibridizálás (*ISH Hybridization (12Hr)).
 17. Ismételje addig a 10–16 lépéseket, amíg minden tesztmetszet és ellenőrzőmetszet (Leica HER2 FISH és/vagy saját ellenőrzőmetszetek) létre nem jön. Nyomtassa ki a metszetcímkeket.
 18. Címkézze fel megfelelően a metszeteket.
 19. Nyissa fel a Leica HER2 FISH System - 30 Test tartályok fedeleit, és töltsse be a reagenseket a BOND-MAX vagy BOND-III rendszerbe.
 20. Helyezzen új fedőlapot minden metszetre.
 21. Töltsse be a tálcákat a BOND-MAX vagy BOND-III rendszerbe, és nyomja meg a Load/Unload (betöltés/kiadás) gombot.
 22. Ellenőrizze, hogy a metszetek be vannak-e olvasva, majd a festés elindításához nyomja meg a Run (Play) (futtatás (indítás)) gombot a System status (rendszerállapot) képernyőn (a Leica HER2 FISH System - 30 Test esetén a metszeteket célszerű a késleltetett indítási funkciót használva éjszaka megfesteni).
 23. Ellenőrizze, hogy a tálcajelző mezőben a Proc (OK) (Feld. (OK)) szöveg jelenik-e meg, és látható-e a tételszám és a befejezési idő.
 24. AfuttatásvégénnyomjamegaLoad/Unload(betöltés/kiadás)gombot, majdvegyekiatálcákat a BOND-MAX vagy BOND-III rendszerből.
 25. Vegye le a fedeleket, majd öblítse le a metszeteket ionmentesített vízzel.
 26. Végezzen gyors dehidrációt két tétel alkohollal, majd szárítsa meg.
 27. Adagoljon 20 µL DAPI oldatot közvetlenül a mintára.
 28. Helyezze fel a fedőlemezt, és hagyja az oldatot teljesen eloszlni. Ügyeljen rá, hogy ne maradjanak légbuborékok.
 29. Zárja le a fedőlemez széleit körömlakkal.
 30. Mielőtt fluoreszcens mikroszkópiával vizsgálná, a jel kifejlődésének gyorsítása érdekében helyezze a metszetet sötét helyre.
 31. A jelintenzitás megőrzése érdekében a metszetet tárolja -20 °C-on.

G. Metszettelrendezés

A festett metszeteket sötétben, -20 °C-on kell tárolni. A -20 °C-os tárolásból kivéve megtekintés előtt hagyja, hogy a metszetek felvegyék a szobahőmérsékletet.

Jelértékelés és -számlálás

A jelminőség értékelését, valamint a HER2 és CEP17 jelek számlálását az alábbi eljárás szerint végezze:



Javasolt eljárás a LSI HER2 : CEP17 arány meghatározására

A LSI HER2 : CEP17 arány meghatározására az alábbi eljárást kövesse:

1. Jegyezze fel és határozza meg a LSI HER2 és CEP17 jelek számát 20 sejtmagban (lásd. 2. ábra: Leica HER2 FISH System - 30 Test értékelési táblázat).
2. Adja össze a LSI HER2 jeleket. Ez adja meg a LSI HER2 jelek összesített számát, pl. 143.
3. Adja össze a CEP17 jeleket. Ez adja meg a CEP17 jelek összesített számát, pl. 48.
4. A végső eredmény az alábbi módon számolható ki :az összes LSI HER2 jel osztva az összes CEP17 jellel, pl. 143/48 adja meg az arányt (itt: 2,98, ami pozitív HER2 amplifikációra utal).

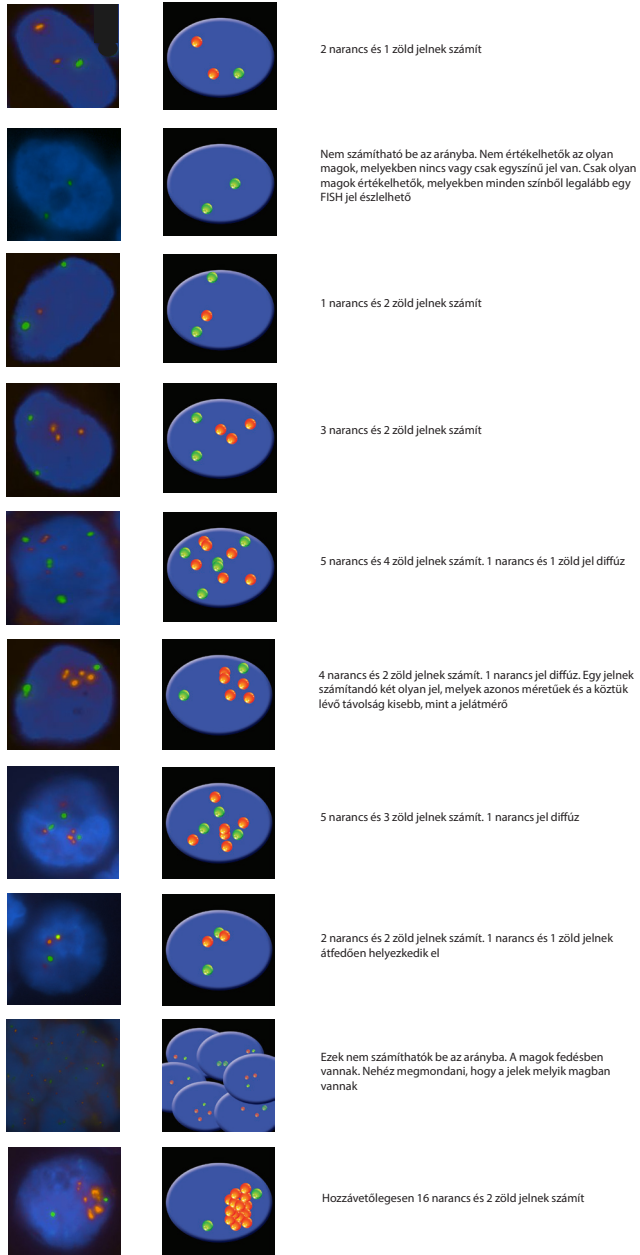
Fontos tudnivaló: ha a LSI HER2 : CEP17 arány határértékre esik (1,80–2,20), akkor számláljon meg újabb 20 sejtmagot, és számítsa ki újra az eredményt.

Az eredmények az alábbi módon rögzítendőek:

1. Ha az arány <2 , akkor nem figyelhető meg HER2 génamplifikáció
2. Ha az arány ≥ 2 , akkor megfigyelhető HER2 génamplifikáció

Fontos tudnivaló: a határérték közeli arányokat (1,80–2,20) a fent leírtaknak megfelelően kellő körültekintéssel kell kezelni.

Leica HER2 FISH System - 30 Test értelmezési útmutató



1. ábra: Értelmezési útmutató

Leica HER2 FISH System - 30 Test értékelési táblázat

| 20 sejtmag jelszámlálása | | | | | |
|--------------------------|------------------|-------------------|----------------|--------------------------------|-------------------|
| Sejtmagszáma | HER2 másolatszám | CEP17 másolatszám | Sejtmagszáma | HER2 másolatszám | CEP17 másolatszám |
| 1 | | | 11 | | |
| 2 | | | 12 | | |
| 3 | | | 13 | | |
| 4 | | | 14 | | |
| 5 | | | 15 | | |
| 6 | | | 16 | | |
| 7 | | | 17 | | |
| 8 | | | 18 | | |
| 9 | | | 19 | | |
| 10 | | | 20 | | |
| 1–10 összesen | | | 11–20 összesen | | |
| | | HER2 | CEP17 | HER2:CEP17 amplifikációs arány | |
| 1–20 összesen | | | | | |
| Sejtenkénti átlag | | | | | |

2. ábra: Mintaértékelési táblázat

Automatizált Ariol módszer a HER2 FISH vizsgálathoz

Az Ariol PathVysion digitális pontozó alkalmazás értelmezési segédeszközként való használatának érvényesítése független módon történik különböző minták kohorszán, a Leica HER2 FISH System - 30 Test való használathoz. Az Ariol PathVysion® digitális pontozó alkalmazás a Leica HER2 FISH System - 30 Test együtt használva In Vitro diagnosztizálásra szolgál. A Leica HER2 FISH System - 30 Test együtt használva az Ariol PathVysion alkalmazást szövetmintás kontroll tárgylemezekhez kell kalibrálni, nem a Leica HER2 FISH Control Slides (TA9123).

Minden diagnosztikai döntést szakképzett klinikai orvos hoz meg.

További információkért, kérjük, tanulmányozza az Ariol használati útmutatóját.

Minőségellenőrzés

Az ellenőrzőmetszetek használata

Minden tesztfuttatáshoz ajánlott egy Leica HER2 FISH Control Slide hozzáadása a módszer teljesítményének felügyeletére és a jelszámlálás pontosságának kiértékelésére. Javasolt egy ellenőrzőmetszet megfestése minden festési sorozatnál a BOND-MAX és BOND-III System, valamint minden egyes új reagenstételnél is. Emellett az egyedi felhasználók választhatják saját ellenőrzőanyaguk használatát is.

Az ellenőrzőmetszet minőségének értékelését és a jelszámlálás elvégzését a **Jelkiértékelés és -számlálás** című fejezet utasításai szerint végezze. A metszet minőségi kritériumai elfogadhatók kell legyenek, és a HER2:CEP17-arány eredményei az elfogadható tesztelési teljesítmény megadott határain belülre kell essenek. A Leica HER2 FISH Control Slides metszetekkel kapcsolatos elfogadási kritériumokért lásd a 3. táblázatot.

| Sejtvonal | Bond Oracle HER2IHCSystem Profil | HER2 sejtenkénti receptorszám* | LeicaHER2FISHSystem-30TestHER2:CEP17elfogadási kritériumok |
|------------|--|--------------------------------------|---|
| SKBr-3 | 3+ | $4,3 \times 10^5$ | HER2 -amplifikáció észlelve |
| MDA-MB-453 | 2+ | $1,4 \times 10^5$ | HER2/CEP17 géarány 1,5–2,5 közötti |
| MDA-MB-175 | 1+ | $6,3 \times 10^4$ | HER2 -amplifikáció nincs észlelve |
| MDA-MB-231 | 0 | $9,3 \times 10^3$ | HER2 -amplifikáció nincs észlelve |

*A HER2 receptorszám meghatározása áramlási citometriával mérve.

3. táblázat: A Leica HER2 FISH Control Slide értelmezése.

Ha a vizsgálat nem sikerült, az ahhoz az esethez tartozó FISH értékek nem rögzíthetők. Ha az ellenőrzőmetszetek nem felelnek meg az elfogadási kritériumoknak, akkor elképzelhető, hogy a Leica HER2 FISH System - 30 Test teljesítménye nem megfelelő. Ebben az esetben a tesztet friss ellenőrzőmetszetekkel és betegből származó mintákkal meg kell ismételni. Ha az eredmények a megadott tartományon kívülre esnek, de az ellenőrzőmetszetek minőségi szempontból elfogadhatóak, akkor ugyanazon metszet szűrésének a megismétlése megfelelő eredményt hozhat, mivel elképzelhető, hogy a számlálás nem volt helyesen elvégezve. A mintánál vagy az ellenőrzőmetszetnél fellépő hibridizációs hibák esetén tekintse át a 6. táblázatban szereplő hibaelhárítási útmutatót.

Ha klinikai minták esetén a hibridizációs jel összetett és nincs elegendő minta a vizsgálat újra elvégzéséhez, akkor a teszt nem informatív. Ha az elemzéshez nincs elegendő sejt, a teszt nem informatív.

A betegből származó mintákat a szabványos laboratóriumi munkautasításoknak megfelelően kell ellenőrizni. A jelek minőségét és számlálását a megfelelő jelentési úrlapon dokumentálni kell.

Korlátozások

A. Általános korlátozások

A FISH technika speciális gyakorlatot igényel az eljárás minden szakaszában (ideértve a megfelelő reagensek és szövetek kiválasztását, a fixálást, a feldolgozást, és a metszet

előkészítését is) és az értelmezésben is. A szövetek festődése erősen függ a szövetek festés előtti kezelésétől, fixálásától és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, fagyasztás, felolvasztás, lemosás, szárítás, melegítés, metszés, illetve a más szövetekkel vagy folyadékokkal való szennyeződés morfológiai műtermékeket, nukleinsav bomlást, háttérfluoreszcenciát, vagy álnegatív eredményeket hoz létre. Az eltérő eredmények a fixálási és beágyazási eljárások különbségeire, illetve a szövetek belső szabálytalanságaira vezethetők vissza (21). Az excesszív vagy hiányos utófestődés szintén meghamisíthatja az eredmények helyes értelmezését.

A rosszul rögzülő minta nem specifikus festődése szórt, granuláris megjelenést eredményez, és a várt hibridizációs helyen, illetve attól távol is észlelhető. A festődési eredmények értékeléséhez csak ép sejteket válasszon. A nekrotikus vagy degeneratív sejtek gyakran aspecifikusan festődnek (22). A nem várt FISH festődés vagy a festődés variabilitása a kódoló gének eltérő szintű kifejeződése miatt is felléphet. A várt festődési mintázat bármely megváltozását más diagnosztikai vizsgálatokkal együtt kell értékelni. A festés eredményeit morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő ellenőrzőanyaggal kell kiegészíteni, valamint a beteg klinikai előzményeinek és egy gyakorlott patológus által elvégzett egyéb diagnosztikai teszteknek a figyelembe vételével kell értékelni.

A vizsgálat teljesítményét (azaz a kontroll megfeleléségének kiértékelését) és bármely festődés értelmezését (vagy a festődés hiányát) egy megfelelően akkreditált/jogosított laboratóriumban, kellően képzett és tapasztalt patológus felügyelete alatt kell elvégezni, aki az *in situ* hibridizációs vizsgálat teljes kiértékeléséért és értelmezéséért a felelősséget viseli. A FISH során álpozitív eredmények a minta más nukleinsav szekvenciákkal való keresztreakciói és/vagy aspecifikus kötődések miatt alakulnak ki. Megfelelő ellenőrzőmintákat kell használni, ezeket dokumentálni kell, és a tesztek elvégzésekor ügyelni kell a lejáratú dátumok betartására is.

A FISH vizsgálatot sejtvonalból származó anyagokon elvégezve műszaki és értelmezésszerű variációk léphetnek fel (23).

B. A termék speciális korlátozásai

Ez a termék más DNS alapú diagnosztikai vizsgálatban nem használható.

Ne cserélje ki a Leica HER2 FISH System - 30 Test reagenseket sem a Leica Biosystems, sem más gyártó reagenseivel. Ellenkező esetben a vizsgálat nem lesz hiteles. A javasolt eljárástól való bármely esetben a felhasználó kell a validálást végezze.

Kiemelten fontos, hogy ebben a vizsgálatban csak formalin alapú fixálóval fixált szövetek használhatók fel. Más típusú fixálók használata a vizsgálatot érvénytelenné teszi.

A javasolt metszetvastagsági tartományon kívül eső szövettani metszetek nem hitelesíthetők. Eltérő vastagságú metszetek használata a vizsgálatot érvénytelenné teheti.

Klinikai konkordancia: Leica HER2 FISH System - 30 Test vs Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit - Emlő

A vizsgálat a Leica HER2 FISH System - 30 Test használhatóságát vizsgálta a Herceptin (trastuzumab) kezelés támogatásában. A vizsgálat úgy lett kialakítva, hogy meghatározza a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszert és a korábban jóváhagyott diagnosztikai eszközt, az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit közötti konkordanciát, mely utóbbi a jelen emlőszöveti vizsgálat viszonyítási alapja is. A tesztek elfogadási kritériuma az volt, hogy a 95%-os egyoldalú konfidenciaintervallum alsó határa 90% felett legyen a Leica HER2 FISH System - 30 Test és a manuális Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit között pozitív (van amplifikáció) és negatív (nincs amplifikáció), formalinnal fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) invazív emlőrákos eseteknél.

A vizsgálat 3 vizsgálóhelyen, maszkolt klinikailag invazív emlőrákos mintákon történt. Mindegyik vizsgálóhely olyan, formalinnal fixált, paraffinba ágyazott invazív emlőrákos szövetblokkokat kapott, melyek HER2 daganatfehérje expressziós szintje ismert volt. Egy 300 mintából álló (75 db, korábban 0/1+ besorolású IHC eset; 150 db, korábban 2+ besorolású IHC eset; és 75 db, korábban 3+ besorolású IHC eset) kohorsz lett kiválasztva, mely a 3 vizsgálóhely között

egyenlően el lett osztva.

Minden mintát manuálisan az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit vizsgálat használatával, a gyártó által a csomagoláson megadott módon festettek meg. Minden esetben egymás után következő metszeteket festettek meg Leica HER2 FISH System - 30 Test használatával a BOND-MAX és BOND-III System.

Minden festett metszet maszkolás után mindhárom helyen 1-1 képzett vizsgáló által lett randomizált módon értékelve. Az értékelés során negatív besorolást jelentett, ha a HER2/CEP17 génarány $<2,0$; és pozitív besorolást, ha a HER2/CEP17 génarány $\geq 2,0$. Az adatokat ezután konkordancia, illetve a negatív és pozitív festődési egyezés szerint elemezték.

A 2x2-es konkordancia eredményei BOND-MAX System - Emlő

A 2x2-es analízishez az adatok negatív ($<2,00$) vagy pozitív ($\geq 2,00$) besorolást kaptak. A 2x2-es analízisben a két teszt között megfigyelt egyezés a 300 mintában 99,33%-os (298/300) konkordanciát mutatott 95%-os CI (97,61–99,92%) mellett a következőkénél: BOND-MAX System

A pozitív egyezés (érzékenység) aránya vagy a Leica HER2 FISH System - 30 Test képessége az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNS vizsgálat pozitív esetek megfelelő azonosítására (a Leica HER2 FISH System - 30 Test és a manuális Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit által pozitívnak minősített minták számának aránya az összes Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit pozitív esethez képest) 99,03% (102/103) volt.

A negatív egyezés (specifitás) aránya vagy a teszt képessége az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatív esetek (a Leica HER2 FISH System - 30 Test és az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit által negatívnak minősített minták számának aránya az összes Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatív esethez képest) megfelelő azonosítására 99,49% (196/197) volt. Lásd a 4. táblázatot.

| | | Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit | | |
|---|------------------------|---|------------------------|----------|
| | | Negatív ($<2,0$) | Pozitív ($\geq 2,0$) | Összesen |
| Leica HER2 FISH System - 30 Test BOND-MAX | Negatív ($<2,0$) | 196 | 1 | 197 |
| | Pozitív ($\geq 2,0$) | 1 | 102 | 103 |
| | Összesen | 197 | 103 | 300 |

Átlagos konkordancia (95% CI) = 99,33% (97,61–99,92%)

4. táblázat A Leica HER2 FISH System - 30 Test festődés 2x2-es átlagos konkordanciája a BOND-MAX System és az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit mellszövet esetén.

A 2x2-es konkordancia eredményei BOND-III System - Emlő

A 2x2-es analízishez az adatok negatív (<2,0) vagy pozitív (≥2,0) besorolást kaptak. A 2x2-es analízisben a két teszt között megfigyelt egyezés a 300 mintában 99,67%-os (299/300) konkordanciát mutatott 95%-os CI (98,16–99,99%) mellett a következőknél: BOND-III System.

A pozitív egyezés (érzékenység) aránya vagy a Leica HER2 FISH System - 30 Test képessége az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit vizsgálat pozitív esetek megfelelő azonosítására (a Leica HER2 FISH System - 30 Test és a manuális Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit által pozitívnak minősített minták számának aránya az összes Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit pozitív esethez képest) 99,03% (102/103) volt.

A negatív egyezés (specifitás) aránya vagy a teszt képessége az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatív esetek megfelelő azonosítására (a Leica HER2 FISH System - 30 Test és Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit által negatívnak minősített minták számának aránya az összes Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatív esethez képest) 100% (197/197) volt. Lásd az 5. táblázatot.

| | | Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit | | |
|---|----------------|---|----------------|----------|
| | | Negatív (<2,0) | Pozitív (≥2,0) | Összesen |
| Leica HER2 FISH System - 30 Test BOND-III | Negatív (<2,0) | 197 | 1 | 198 |
| | Pozitív (≥2,0) | 0 | 102 | 102 |
| | Összesen | 197 | 103 | 300 |

Átlagos konkordancia (95% CI) = 99,67% (98,16–99,99%)

5. táblázat A Leica HER2 FISH System - 30 Test esetén BOND-III rendszerben az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit rendszeréhez képest, emlőszövetben.

Következésképpen az ebből a vizsgálatból nyert adatok bemutatták, hogy a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszer a korábban jóváhagyott diagnosztikai teszt, az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit eredményével való nagyfokú konkordanciája miatt alkalmas olyan betegek értékelésére, akiknél Herceptin(trastuzumab) kezelés indítása merül fel.

A Leica HER2 FISH System - 30 Test klinikai konkordanciája az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit rendszerrel összehasonlítva - Gyomor

A vizsgálat a Leica HER2 FISH System - 30 Test használhatóságát vizsgálta a Herceptin (trastuzumab) kezelés támogatásában. A vizsgálat úgy lett kialakítva, hogy meghatározza a Leica HER2 FISH System - 30 Test és a korábban jóváhagyott diagnosztikai eszköz, az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit közti konkordanciát, mely utóbbi a jelen gyomorszöveti elemzés viszonyítási alapja is. A tesztek elfogadási kritériuma az volt, hogy a 95%-os egyoldalú konfidenciaintervallum alsó határa 90% felett legyen a Leica HER2 FISH System - 30 Test és a manuális Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit között pozitív (van amplifikáció) és negatív (nincs amplifikáció), formalinnal fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) gyomor (beleértve a gastrooesophagealis átmenetet) adenocarcinoma eseteknél.

A vizsgálatot klinikailag invazív gyomor adenocarcinoma mintákon végezték. A tesztelést olyan archivált, formalinnal fixált, paraffin beágyazású, gyomor adenocarcinoma szövetblokkokkal végezték, melyeknél a HER2 génkifejeződés szintje ismert volt. Egy 109 mintából (50 amplifikált és 59 nem amplifikált minta) álló kohorsz lett kiválasztva.

Minden mintát manuálisan az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit vizsgálat használatával, a gyártó által a csomagoláson megadott módon festettek meg. Minden esetenél egymás után következő metszeteket festettek meg Leica HER2 FISH System - 30 Test használatával a BOND-MAX rendszerben.

Minden festett metszetet randomizált módon egy képzett vizsgáló értékelt ki. Az értékelés során negatív besorolást jelentett, ha a HER2/CEP17 géarány $<2,0$; és pozitív besorolást, ha a HER2/CEP17 géarány $\geq 2,0$. Az adatokat ezután konkordancia, illetve a negatív és pozitív festődési egyezés szerint elemezték.

A BOND-MAX rendszer 2x2-es konkordancia eredményei - Gyomor

A 2x2-es analízishez az adatok negatív ($<2,00$) vagy pozitív ($\geq 2,00$) besorolást kaptak. A 2x2-es analízisben a két teszt között megfigyelt egyezés a 109 mintában 98,17%-os (107/109) konkordanciát mutatott 95%-os CI (93,53–99,78% mellett a BOND-MAX rendszerrel).

A pozitív egyezés (érzékenység) aránya vagy a Leica HER2 FISH System - 30 Test képessége az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe vizsgálat pozitív esetek megfelelő azonosítására (a Leica HER2 FISH System - 30 Test és a manuális Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit által pozitívnak minősített minták számának aránya az összes Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit pozitív esethez képest) 96,00% (48/50) volt.

A negatív egyezés (specifitás) aránya vagy a teszt képessége az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatív esetek (a Leica HER2 FISH System - 30 Test és az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit által negatívnak minősített minták számának aránya az összes Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatív esethez képest) megfelelő azonosítására 100% (59/59) volt. Lásd a 6. táblázatot.

| | | Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit | | |
|---|------------------------|---|------------------------|----------|
| | | Negatív ($<2,0$) | Pozitív ($\geq 2,0$) | Összesen |
| Leica HER2 FISH System - 30 Test BOND-MAX | Negatív ($<2,0$) | 59 | 2 | 61 |
| | Pozitív ($\geq 2,0$) | 0 | 48 | 48 |
| | Összesen | 59 | 50 | 109 |

Átlagos konkordancia (95% CI) = 98,17% (93,53–99,78%)

6. táblázat A BOND-MAX rendszeren használt Leica HER2 FISH System - 30 Test 2x2-es klinikai konkordanciája az Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit rendszerrel összehasonlítva gyomorszöveten.

Precíziós tesztelés – BOND-MAX System

A. A festésen belüli precizitás tesztelése

A festésen belüli precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test festésen belüli precizitása egyetlen vizsgálóhelyen, 540 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A festésen belüli precizitás meghatározásakor a TMA-k használata egy berendezés egyetlen festése alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A festésen belüli precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 532/540 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 98,52%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 97,10% lett kiszámítva.

B. A műszerek közti precizitás tesztelése

A műszerek közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test műszerek közötti precizitásának vizsgálatát egyetlen vizsgálóhelyen, 1620 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A műszerek közötti precizitás meghatározásakor a TMA-k használata egy berendezésen végzett több festése alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A műszerek közötti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 1620/1620 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 100%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 99,82% lett kiszámítva.

C. A festések közti precizitás tesztelése

A festések közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test festések közti precizitása egyetlen vizsgálóhelyen, 900 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A festések közötti, naponkénti precizitás meghatározásakor a TMA-k használata több napon elvégzett festések alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A festések közötti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 894/900 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 99,33%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 98,55% lett kiszámítva.

D. A laboratóriumok közti precizitás tesztelése

A laboratóriumok közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test laboratóriumok közti precizitása három vizsgálóhelyen, 513 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A laboratóriumok közötti, naponkénti precizitás meghatározásakor a TMA-k használata több műszeren elvégzett festések alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A laboratóriumok közötti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 510/513 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 99,42%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 98,30% lett kiszámítva.

E. A vizsgálók közti precizitás tesztelése

A vizsgálók közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test tesztelésének vizsgálók közti reprodukálhatósága három vizsgálóhelyen lett mérve. A mintákat minden vizsgálóhelyen 1-1 tapasztalt vizsgáló értékelt. A vizsgálók közti precizitás ellenőrzésére 18 emlőrákos eset teljes metszetét használták, melyek megfeleltek a klinikai gyakorlatban előforduló mintatípusoknak.

A vizsgálók közti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 53/54 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 98,15%-os átlagos konkordancia 95%-os CI, 90,11% lett kiszámítva.

F. Tételenkénti precizitás

A tételenkénti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A tételenkénti precizitás vizsgálatához a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszerben 3 független gyártási sor lett legyártva GMP szerint. Minden tétel egyetlen vizsgálóhelyen lett tesztelve 540 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A tételenkénti reprodukálhatóság meghatározásakor a TMA-k használata a több tételen elvégzett festések alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A tételenkénti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 534/540 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 98,89%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 97,60% lett kiszámítva.

Precíziós tesztelés – BOND-III System

G. A festésen belüli precizitás tesztelése

A festésen belüli precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test festésen belüli precizitása egyetlen vizsgálóhelyen, 540 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A festésen belüli precizitás meghatározásakor a TMA-k használata egy berendezés egyetlen festése alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A festésen belüli precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 540/540 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 100%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 99,45% lett kiszámítva.

H. A műszerek közti precizitás tesztelése

A műszerek közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test műszerek közötti precizitásának vizsgálatát egyetlen vizsgálóhelyen, 1620 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A műszerek közötti precizitás meghatározásakor a TMA-k használata egy berendezésen végzett több festése alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A festésen belüli precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 1620/1620 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 100%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 99,82% lett kiszámítva.

I. A festések közti precizitás tesztelése

A festések közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test festések közti precizitása egyetlen vizsgálóhelyen, 900 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A festések közötti, naponkénti precizitás meghatározásakor a TMA-k használata több napon elvégzett festések alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A festések közötti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 891/900 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 99,00%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 98,11% lett kiszámítva.

J. A laboratóriumok közti precizitás tesztelése

A laboratóriumok közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test laboratóriumok közti precizitása három vizsgálóhelyen, 513 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán végezték, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A laboratóriumok közötti, naponkénti precizitás meghatározásakor a TMA-k használata több műszeren elvégzett festések alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A laboratóriumok közötti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 511/513 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 99,61%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 98,60% lett kiszámítva.

K. A vizsgálók közti precizitás tesztelése

A vizsgálók közti precizitás vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A Leica HER2 FISH System - 30 Test tesztelésének vizsgálók közti reprodukálhatósága három vizsgálohelyen lett mérve. A mintákat minden vizsgálohelyen 1-1 tapasztalt vizsgáló értékelte. A vizsgálók közti precizitás ellenőrzésére 18 emlőrákos eset teljes metszetét használták, melyek megfeleltek a klinikai gyakorlatban előforduló mintatípusoknak.

A vizsgálók közti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 53/54 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 98,15%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 90,11% lett kiszámítva.

L. Tételenkénti reprodukálhatóság

A tételenkénti reprodukálhatóság vizsgálata maszkolt és randomizált mintákon történt. A tételenkénti precizitás vizsgálatához a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszerben 3 független gyártási sor lett legyártva GMP szerint. Minden tétel egyetlen vizsgálohelyen lett tesztelve 540 db, korábban HER2 génre karakterizált TMA mintán, melyek formalinnal fixált, paraffinba ágyazott emlőrákos szövetet tartalmaztak. A tételenkénti reprodukálhatóság meghatározásakor a TMA-k használata a több tételen elvégzett festések alatt nagy mennyiségű esetet vizsgálatát tette lehetővé, melyek a HER2 génkifejeződés széles skáláját fedték le.

A tételek közti precizitás ellenőrzése során a festett metszetek számlálásakor 540/540 esetben volt konkordancia megfigyelhető, ami alapján 100%-os átlagos konkordancia alsó 95%-os CI / 99,45% lett kiszámítva.

A vizsgálat robusztussága

A BOND-MAX és BOND-III rendszer robusztusságát a vizsgálat következő jellemzőinek meghatározására végezték: hővisszanyerési idő és a -hőmérséklet toleranciartomány; enzim-visszanyerési idő, hőmérséklet és koncentráció; denaturációs idő és hőmérséklet; hibridizációs idő és hőmérséklet; és megfelelő lemosás ideje és hőmérséklete. A robusztusságra vonatkozó vizsgálatokat az alapértelmezett BOND-MAX és BOND-III rendszer protokollal a hőmérsékletre és páratartalomra vonatkozóan a javasolt határokon kívül is elvégezték az FDA/ORA útmutatójának (ORALAB5.3, 1.7 revízió) megfelelően.

- Az amplifikációs állapotban nem lehetett különbséget megfigyelni, ha az alapértelmezett hőmérsékletet minden hőmérsékletfüggő lépésnél 4 °C-kal növelték vagy csökkentették az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest. A legjobb minőségi eredmény az alapértelmezett hőmérsékleteknél wvott megfigyelhető, így ezek használata javasolt.
- Amikor a hő indukálta epitop-visszanyerési (HIER) időt 20 és 30 percre állították 97 °C-on BOND ER1 oldattal, az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest nem volt különbség megfigyelhető az amplifikációs állapotban. A legjobb minőségi eredmény az alapértelmezett 25 percnél volt tapasztalható, így ez az inkubációs időtartam javasolt.
- Amikor az enzim indukálta epitop-visszanyerési (EIER) időt 15 és 35 percre állították 37 °C-on, az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest nem volt különbség megfigyelhető az amplifikációs állapotban. A legjobb minőségi eredmény az alapértelmezett 25 percnél volt tapasztalható, így ez az inkubációs időtartam javasolt.
- Amikor az enzim indukálta epitop-visszanyerési (EIER) enzimkoncentrációt 1:200 és 1:500 enzimkoncentrátum/enzimoldószér arányra állították, az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest nem volt különbség megfigyelhető az amplifikációs állapotban. A legjobb minőségi eredmény az alapértelmezett 1:300 aránynál volt tapasztalható, így ez a hígítási arány javasolt.

- Amikor a denaturálási időt 5 és 15 percre állították, az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest nem volt különbség megfigyelhető az amplifikációs állapotban. A legjobb minőségi eredmény az alapértelmezett 10 percnél volt tapasztalható, így ez a denaturálási időtartam javasolt.
- Amikor a hibridizálási időt 9 és 15 órára állították, az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest nem volt különbség megfigyelhető az amplifikációs állapotban. A legjobb minőségi eredmény az alapértelmezett 12 óránál volt tapasztalható, így ez a hibridizálási időtartam javasolt.
- Amikor a hibridizálás utáni mosás időtartamát 2, 5 és 7 percre állították, az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest nem volt különbség megfigyelhető az amplifikációs állapotban. A legjobb minőségi eredmény az alapértelmezett 4 percnél volt tapasztalható, így ez a hibridizálás utáni mosási időtartam javasolt.
- Amikor a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszert 28 °C-on, 30%-os, illetve 16 °C-on, 80% relatív páratartalom mellett használták, az alapértelmezett Leica HER2 FISH System - 30 Test protokollhoz képest nem volt különbség megfigyelhető az amplifikációs állapotban.

A vizsgálat tesztelt robusztussági paraméterein kívüli értékek mellett végzett műveletek nincsenek validálva. Eltérő tesztelési paraméterek használata a vizsgálatot érvénytelenné teheti.

A fenti szöveg ismerteti a vizsgálat során tesztelt feltételeket és ezek eredményeit. Vegye figyelembe, hogy a Leica nem tesztelte le az összes lehetséges paraméterkombinációt, és az alapértelmezett tartományokon kívül eső feltételek melletti használatot nem javasolja. Az alapértelmezett Leica HER2 FISH - 30 Test festési protokollt a 2. táblázat tartalmazza.

Hibaelhárítás

| A hiba | A hiba oka | Teendő |
|--|--|---|
| Nincsvagygyenge a fluoreszcens jel/ festődés | A tesztminta fixálása vagy feldolgozása nem megfelelő | Ellenőrizze, hogy formalin alapú fixálót használtak-e, valamint hogy a feldolgozási lépések megfelelőek-e a vizsgált mintához. |
| | Leica HER2 FISH System - 30 Test a lejáratú dátum után lett felhasználva | Ellenőrizze, hogy a Leica HER2 FISH System - 30 Test csak a lejáratú dátumon belül legyen felhasználva. |
| | Helytelen protokoll lett kiválasztva | Ellenőrizze, hogy a megfelelő alapértelmezett értéket az Add slide (metszet hozzáadása) panel festési Protocol (protokoll) mezőjének *FISH Protocol A részében. |
| | Nem megfelelő reagens lett adagolva | Ellenőrizze, hogy minden BOND reagens a megfelelő tartályhoz van-e hozzárendelve, és megfelelően van-e elrendezve a berendezésben. |
| | A metszetek paraffinmentesítése nem megfelelő | Ellenőrizze, hogy az Add slide (metszet hozzáadása) panel Preparation (előkészítés) mezőjében a *Dewax mód legyen kiválasztva. |
| | Nem megfelelő előkezelés | Ellenőrizze, hogy az alapértelmezett előkezelési (HIER és Enzymatic Digestion) protokollok legyenek kiválasztva. Szükség esetén állítsa be az előkezelési protokollt (HIER vagy Enzymatic Digestion). |
| | Nem megfelelő denaturálás | Ellenőrizze, hogy a megfelelő *D10 denaturáció legyen kiválasztva. |
| | Nem megfelelő hibridizálás | Ellenőrizze, hogy a megfelelő *H12 hibridizálás legyen kiválasztva. Szükség esetén növelje meg a hibridizálási időt. |
| | Túlzott mértékű hibridizálás utáni mosás | Csökkentse a hibridizálás utáni mosás inkubálási idejét. |
| | A festés a befejezés előtt félbeszakadt | A BOND programmal ellenőrizze, hogy voltak-e hibaüzenetek a festés alatt, majd járjon el a BOND program által javasolt módon. |
| | Nem megfelelő fluoreszcens mikroszkópiás berendezés | Ellenőrizze, hogy használt minden fluoreszcens mikroszkópiás berendezés megfelelő legyen az elvégzendő vizsgálathoz: |
| <ul style="list-style-type: none"> • Nem megfelelő szűrőkészlet • Nem megfelelő lámpa • Az élettartama végét elért lámpa • Nem megfelelő olajtípus | <ul style="list-style-type: none"> • Megfelelő szűrőkészlet • Megfelelő lámpa • Kellő fényerejű lámpa • Megfelelő olaj az immerziós vizsgálathoz | |
| Az UV-fénynek való túlzott kitétség (fény okozta kifelérédes) | A fluoreszcens jelek megőrzése érdekében az értékelés előtt és után sötét helyen tárolja a mintákat. A jelek megőrzése érdekében a hosszú idejű tárolás -20 °C-on történjen. | |
| A hiba | A hiba oka | Teendő |

| | | |
|--|--|---|
| Nem specifikus fluoreszcens jel/háttérfestődés | Nem megfelelő hibridizálás utáni mosás | Megnövekedett hibridizálás utáni mosási inkubálási idő. |
| | Nem megfelelő reagens lett adagolva | Ellenőrizze, hogy minden BOND reagens a megfelelő tartályhoz van-e hozzárendelve, és megfelelően van-e elrendezve a berendezésben. |
| | A metszetek paraffinmentesítése nem megfelelő | Ellenőrizze, hogy az Add slide (metszet hozzáadása) panel Preparation (előkészítés) mezőjében a *Dewax mód legyen kiválasztva. |
| | Nem specifikus keresztreakció a szövet nekrotikus területein | Ellenőrizze, hogy formalin alapú fixálót használtak-e, valamint hogy a feldolgozási lépések megfelelőek-e a vizsgált mintához. Lehetőség szerint végezzen új tesztet egy másik blokkal. Ha ez nem lehetséges, a legjobb fixálási mintát mutató területet értékelje ki egy megfelelő H&E metszet segítségével. |
| | A metszetek hozzáragadnak az eltérő ragasztót használó tárgylemezekhez | Használjon BOND Plus Slides termékkód: S21.2113 vagy Apex BOND Slides termékkód: 3800040). |
| A szöveti morfológia gyenge megőrződése | Nem megfelelő szöveti festődés és feldolgozás | Ellenőrizze, hogy formalin alapú fixálót használtak-e, valamint hogy a feldolgozási lépések megfelelőek-e a vizsgált mintához. Lehetőség szerint végezzen új tesztet egy másik blokkal. Ha ez nem lehetséges, a legjobb fixálási mintát mutató területet értékelje ki egy megfelelő H&E festésű metszet segítségével. |
| | Nem megfelelő előkezelés | Állítsa be az előkezelési protokollt (HIER vagy Enzymatic Digestion). |
| A szövet leválik a beteg/kontroll lemezről | Nem megfelelő lemezeket használt vagy nem megfelelő elvezetést alkalmazott a metszeten | Használjon megfelelő lemezeket a beteg-/ellenőrzőmetszetekhez (pl. BOND Plus Slides, termékkód: S21.2113 vagy Apex BOND Slides termékkód: 3800040). Ellenőrizze, hogy a metszetek elvezetése megfelelő legyen, és 1 órán át 60 °C-on inkubálva legyenek. |

7. táblázat. Leica HER2 FISH System - 30 Test hibaelhárítási útmutató.

Ha a Leica HER2 FISH System - 30 Test rendszerrel kapcsolatos probléma kívül esik a hibaelhárítási útmutató tárgykörén, további segítségért lépjen kapcsolatba a helyi Leica Biosystems Műszaki szervíz részleggel vagy a forgalmazóval.

Referenciák

- Bargmann CI, Hung MC, Weinberg RA. The neu oncogene encodes an epidermal growth factor related protein. *Nature* 1986;319:226–30.
- 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: 992–1003.
- Wolff A.C., Hammond E.H., Schwartz J.N., et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 25, 1-28, 2007.
- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987;235:177-182.
- Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch A, et al. Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1992;10:7:1049-1056.
- Gullick WJ, Love SB, Wright C, et al. c-erbB-2 protein overexpression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *British Journal of Cancer* 1991;63:434-438.
- Borg A, Tandon AK, Sigurdsson H, et al. HER-2/neu amplification predicts poor survival in node-positive breast cancer. *Cancer Research* 1990;50:4332-4337.
- Tandon AK, Clark GM, Chamness AU, et al. HER-2/neu oncogene and prognosis in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1989; 7:1120-1128.
- Van Cutsem E, Kang Y, Chung H, Shen L, Sawaki A, Lordick F et. al. Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC). *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27: LBA4509.
- Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JBB, Henner D, Wong WLT, et al. Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 1992; 89: 4285–9.
- 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. *Molecular & Cell Biology* 1989; 9: 1165–72.
- 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 Immunology and Immunotherapy* 1993; 37: 255–63.
- 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 Research* 1998; 58: 2825–31.
- Ellis I.O., Bartlett J., Dowsett M., Humphreys S., Jasani B., Miller K., Pinder S.E., Rhodes A. and Walker R. Best practise No. 176: Updated recommendations for Her-2 testing in the UK. *Journal of Clinical Pathology* 57; 233-237, 2004.
- Walker R.A, Bartlett, J., Dowsett, M., Ellis, I., Hanby, A., Jasani, Miller, K., Pinder, S. HER2 Testing in the UK – further update to recommendations. *Journal of Clinical Pathology* 2007.054866
- Press MF, Zhou JY, Ma Y, et al. Evaluation of HER-2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization in invasive breast carcinoma. In: *FISH: Clinical Applications in Cancer and Genetics* February 8-11, 1994; Lake Tahoe, CA.
- Pauletti G, Singh R, Press MF, et al. HER-2/neu gene amplification detected by fluorescence in situ hybridization: A comparative study with other techniques. Abstract 3247, *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 1994 35:545.
- Szöllösi J, Balázs M, Feuerstein BG, et al. Phenotype genotype relationship in erbB-2 amplification. *International Society for Analytical Cytology* 1994 Abstracts. 92. Abstract 536D.
- Kallioniemi O, Kallioniemi A, Kurisu W, et al. ERBB2 amplification in breast cancer analyzed by fluorescence in situ hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1992;89:5321-5325.
- The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality assurance for immunocytochemistry; Approved guideline. NCCLS document MM4-A (1-56238-396-5) NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 1999; 19087–1898: USA
- Nadji, M. and Morales, A. R. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Laboratory Medicine* 1983; 14: 767.
- Jackson P. 2007. Quality Assurance in Immunohistochemistry. In: *Immunohistochemistry*, 2007 (ed. Renshaw S), PP 205–237. Scion Publishing Ltd.

23. Bartlett JMS, Ibrahim M, et al External Quality Assurance of HER2 FISH Testing: Results of a UK NEQAS Pilot Scheme. Journal of Clinical Pathology. 2006.

Licencszerződés

Ez a termék PathVysion FISH mintát tartalmaz, mely az Abbott Molecular Inc terméke.

PathVysion, LSI és CEP az Abbott Molecular Inc védjegyei. Minden jog fenntartva. Licenc hatálya alatt használható.









Az előző verzió módosításai

Gyomor-adatok hozzá.

Kibocsátás dátuma

26 Február 2020

Jelmagyarázat

| | | | | | |
|---|---|---|---------------------------------|---|--------------------------------------|
|  | Sorozat kódja |  | Tárolás |  | Katalógusszám |
|  | <i>In vitro</i> diagnosztikai orvosi eszköz |  | Gyártó | SN | Sorozatszám |
|  | Az utasításokat a kézikönyvtartalmazza |  | A tartalom <n> teszthezelegendő |  | Lejárati dátum EEEE-HH-NN |

Herceptin a Genentech, Inc. és az F. Hoffmann-La Roche Ltd. védjegye