

# Leica HER2 FISH System - 30 Test Kullanım Talimatları

Leica Biosystems' BOND-MAX and BOND-III System'de kullanım için.

TA9217, 30 testin boyanması için tasarlanmış bir flüoresan *in situ* hibridizasyon ürünüdür (LSI HER2/CEP17 Dual Probe ile boyanmış 30 lam).



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

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

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

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

**Rx** only

<b>Kullanım Amacı</b> .....	<b>3</b>
<i>in vitro</i> diagnostik kullanımı için.....	3
Gerekli eğitim .....	3
<b>Özet ve Açıklama</b> .....	<b>3</b>
Arka Plan .....	3
BOND-MAX System Klinik Konkordans Özeti .....	4
BOND III System Klinik Konkordans Özeti .....	4
Prosedür Prensipleri .....	5
Sağlanan Komponentler .....	5
Kullanım Talimatları .....	5
Saklama ve Dayanıklılık .....	5
Numune Hazırlığı .....	6
Uyarılar ve Önlemler .....	6
<b>Prosedür</b> .....	<b>6</b>
A. Sağlanmayan ancak gerekli reagent'ler .....	6
B. Sağlanmayan ancak gerekli ekipman .....	6
C. Metodoloji .....	7
D. Tedavi Öncesi Bond Enzime .....	7
E. Varsayılan Boyama Protokolü .....	7
F. Prosedür Adımları .....	7
G. Lam Saklama .....	8
<b>Sinyal Değerlendirmesi ve Sayımı</b> .....	<b>9</b>
LSI HER2 için CEP17 Oran Belirlemede Önerilen Yöntem .....	10
<b>Leica HER2 FISH System - 30 Test Yorumlama Kılavuzu</b> .....	<b>11</b>
<b>Örnek Skor Sayfası</b> .....	<b>12</b>
<b>Kalite Kontrol</b> .....	<b>13</b>
<b>Sınırlamalar</b> .....	<b>14</b>
A. Genel Sınırlamalar .....	14
B. Ürüne Özel Sınırlamalar .....	14
<b>Leica HER2 FISH System - 30 Test Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit'e Klinik Konkordansı</b>	
- Meme .....	14
BOND-MAX System 2x2 Konkordans Sonuçları - Meme.....	15
BOND III System 2x2 Konkordans Sonuçları - Meme.....	16
<b>Leica HER2 FISH System - 30 Test'in Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit'e Klinik Konkordansı -</b>	
<b>Gastrik</b> .....	<b>17</b>
BOND-MAX Sistemi 2x2 Konkordans Sonuçları - Gastrik .....	17
<b>Hassasiyet Testi – BOND-MAX System</b> .....	<b>18</b>
A. Çalıştırma İçerisinde Hassasiyet Çalışması .....	18
B. Enstrüman İçerisinde Hassasiyet Çalışması .....	18
C. Çalıştırma Arasında Hassasiyet Çalışması.....	18
D. Laboratuvar Arasında Hassasiyet Çalışması.....	18
E. Gözlemci Arasında Hassasiyet Çalışması .....	18
F. Lot'a Lot Hassasiyet Çalışması.....	19
<b>Hassasiyet Testi – BOND-III System</b> .....	<b>19</b>
G. Çalıştırma İçerisinde Hassasiyet Çalışması .....	19
H. Enstrüman İçerisinde Hassasiyet Çalışması .....	19
I. Çalıştırma Arasında Hassasiyet Çalışması.....	19
J. Laboratuvar Arasında Hassasiyet Çalışması .....	20
K. Gözlemci Arasında Hassasiyet Çalışması .....	20
L. Lot'a Lot Hassasiyet Çalışması.....	20
<b>Test Sağlamlığı</b> .....	<b>21</b>
<b>Sorun Giderme</b> .....	<b>22</b>
<b>Referanslar</b> .....	<b>24</b>
<b>Lisans Sözleşmesi</b> .....	<b>25</b>
<b>Önceki baskıya göre değişiklikler</b> .....	<b>25</b>
<b>Yayın tarihi</b> .....	<b>25</b>
<b>Sembol Tanıma</b> .....	<b>25</b>

## Kullanım Amacı

### *in vitro* diagnostik kullanımı için

Leica HER2 FISH System - 30 Test formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş insan meme kanseri ve mide adenokarsinomları (gastroözofageal bileşim dahil) dokusu numunelerinde flüoresan *in situ* hibridizasyonu (FISH) ile HER2/neu geninin amplifikasyonunu tespit etmek üzere tasarlanmıştır. Leica HER2 FISH System - 30 Test, Herceptin® (trastuzumab) tedavisinin göz önüne alındığı (bakınız Herceptin prospektüsü) hastaların değerlendirilmesinde bir yardımcı olarak belirtilmektedir. Leica HER2 FISH System - 30 Test, meme kanserini taramak veya teşhis etmek için kullanılmak amacıyla tasarlanmıştır. Tümör boyutu, entegre lenf nodüllerinin sayısı ve steroid reseptör durumu gibi mevcut tüm diğer klinik bilgilerin de dikkate alınması gerekir. Meme kanseri olan hastalar için tedavi kararında sadece HER2 geni amplifikasyon durumu baz alınmamalıdır.

Not: Herceptin klinik denemelerdeki hastaların tümü, bir araştırma aşamasındaki immünositokimyasal Clinical Trial Assay (CTA) (Klinik Deneme Testi) kullanılarak seçilmiştir. Bu denemelerdeki hastaların hiçbirisi, Leica HER2 FISH System - 30 Test kullanılarak seçilmemiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test, bağımsız bir örnek setinde Abbott Molecular PathVysion® HER-2 DNA Probe Kit testi ile karşılaştırılmış ve Klinik Konkordans Özeti'nde belirtildiği gibi kabul edilebilir uyumlu sonuçlar sağladığı bulunmuştur. Leica HER2 FISH System - 30 Test sonuçlarının, klinik bulguları ile gerçek korelasyonu belirlenmemiştir.

Herceptin ileri mide kanseri (ToGA) klinik denemelerindeki tüm hastalar Dako Hercep Testi kullanılarak seçilmiştir. Bu denemelerdeki hastaların hiçbirisi, Leica HER2 FISH System - 30 Test kullanılarak seçilmemiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test, bağımsız bir örnek setinde Abbott Molecular PathVysion\* HER-2 DNA Probe Kit testi ile karşılaştırılmış ve Klinik Konkordans Özeti'nde belirtildiği gibi kabul edilebilir uyumlu sonuçlar sağladığı bulunmuştur. Leica HER2 FISH System - 30 Test sonuçlarının, klinik bulguları ile gerçek korelasyonu belirlenmemiştir.

\* Herceptin®, Genentech, Inc. ve F. Hoffmann-La Roche Ltd.'nin bir ticari markasıdır. PathVysion® Abbott Molecular Inc'in bir ticari markasıdır. Tüm Hakları Saklıdır. Lisanslı olarak kullanılır.

### Gerekli eğitim

Leica Biosystems tüm kullanıcılar için numune hazırlığı, test prosedürü ve HER2 geni FISH testinin yorumlanması ile ilgili eğitim sağlayacaktır.

## Özet ve Açıklama

### Arka Plan

HER2 geni, neu veya c-erbB2 olarak da bilinir, 17q11-12 (1) bölgesinde 17 no'lu kromozomun uzun kolunda bulunur. HER2 geni ve 185 kD'lik kodlanan proteinin, meme kanserinin tümör progresyonunda ve malign dönüşümünde büyük rol oynadığı gösterilmektedir (2).

HER2, yüksek oranda hastalık tekrarı ve daha yüksek ölüm oranına bağlı gen amplifikasyonu ve protein aşırı üretimi ile bir prognostik işaretleyici olarak çalışır. HER2, seçilen sistemik kemoterapi ve hedeflenen tedaviler için prediktif bir işaretleyici olarak da görev alır (3). Özellikle HER2 geni amplifikasyonu, pozitif nodül meme kanserinde bir kötü prognoz göstergesi olduğu belirtilmiştir (4-8). Ayrıca bir çalışma, kemoterapi ile tedavi edilen hastalarda HER2 prognostik değerinin daha güçlü olduğu belirtilmiştir (7). Bununla birlikte, münferit hastalarda hastalısız ve toplam sağkalm süresinin öngörülmesi için tümör boyutu, pozitif lenf nodülleri sayısı ve steroid reseptör durumu gibi belirlenen diğer prognostik faktörlerin de dikkate alınması gerekir.

Meme kanseri hücrelerinde bulunan gen amplifikasyonunun bir sonucu olarak HER2 onkoproteinini aşırı üretimi, bir antikor bazlı tedavi için bir hedef olarak HER2'yi (3) önerir - ToGA deneme sonuçları gastrik kanserde kemoterapi ile birlikte Herceptin® kullanımının HER2 pozitif olan gastrik kanserlerde genel kurtulma oranını artıran etkin bir tedavi olduğunu göstermektedir (9). HER2 onkoproteine yüksek benzerlikle bağlanan bir humanize monoklonal antikor (10) olan Herceptin (trastuzumab), *in vitro* ve *in vivo* HER2 onkoproteinini aşırı üreten human tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (11-13). Herceptin'in geliştirilmesiyle HER2 geni ve proteinin tespit edilmesi, tedavi seçimi ve sonraki hasta yönetimi ile meme tümörlerinin değerlendirilmesinde başlıca araç haline gelmiştir (14,15).

Human meme kanseri hücre hatlarından derive edilen interfaz ve metafaz hücrelerinde FISH, HER2 geni amplifikasyonunu göstermek için kullanılır (16-19). HER2 geni amplifikasyonunun miktar ölçümü için FISH, HER2 gen amplifikasyon düzeyini doğrudan tümör hücrelerinde değerlendirir. Münferit kültürü yapılmamış primer meme kanserinde onkogen kopyaların uzaysal (spatial) dağılımı ve dokunun karakteristik morfolojisi muhafaza edilir. 17 kopya no'lu kromozomdaki aberasyonlar (anösomi) da genelde meme tümörlerinde bulunur. Bunlar, kromozom delesyonları veya gain'leri (polizomi) olarak belirtilebilir. Bu kromozal varyasyon, HER2 geni amplifikasyon durumunun yorumlanmasında ve raporlanmasında kritik etkiye sahiptir. Bu nedenle 17 kopya no'lu kromozomun HER2 ile bağlantılı olarak ölçümü kritik öneme sahiptir (4).

Leica HER2 FISH System - 30 Test, HER2 gen loküsü (17q11.2-q12) için bir 226 Kb SpectrumOrange™ doğrudan etiketli flüoresan DNA probu olan LSI HER2 DNA probunu ve 17 no'lu kromozomun (17p11.1-q11.1) sentromer bölgesinde yer alan alfa satelit DNA sekansı için spesifik bir 5.4 Kb SpectrumGreen™ doğrudan etiketli flüoresan DNA probu olan CEP17 DNA probunu içerir. Prob solüsyonu, BOND-MAX and BOND-III System'inde kullanılmak üzere özellikle formüle edilmiş ve doğrulanmıştır ve manuel bir ayarda kullanılmamalı veya modifiye edilmemelidir.

### **BOND-MAX System Klinik Konkordans Özeti**

Leica HER2 FISH System - 30 Test, HER2 geni amplifikasyon durumunun belirlenmesi için kullanılan mevcut metodolojilere karşılık olarak tamamen otomatik bir alternatif sağlamak için geliştirilmiştir. BOND-MAX System'da Leica HER2 FISH System - 30 Test performansı, 300 meme tümörü numunelerinde Leica HER2 FISH System - 30 Test Abbott Molecular PathVysion 300 meme tümörü örneklerinde ve 109 mide adenokarcinomamasında (gastroözofageal bileşim dahil) HER-2 DNA Prob Kit Testi. Bu tümör numunelerinden hiçbiri, Herceptin klinik çalışmalarındaki hastalardan elde edilmemiştir. Meme dokusundaki sonuçlar 2x2 analizinde %99,33 konkordans göstermiştir (%97,61–99,92 güvenli aralığında %95). Mide adenokarsinomları sonuçları (gastroözofageal bileşim dokusu dahil) 2x2 analizinde %98,17 konkordans göstermiştir (%93,53–99,78 güvenli aralığında %95). Konkordans verisi ayrıca, Leica HER2 FISH System - 30 Test ile pozitif bir sonucun büyük ihtimalle Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit testindeki bir pozitif sonuca karşılık geldiğini belirtir. Leica HER2 FISH System - 30 Test, HER2 geni amplifikasyonu için HER2:CEP17 geni oranı 2,0'dan düşük olduğunda negatif ve HER2:CEP17 geni oranı 2,0'dan büyük veya eşit olduğunda pozitif olarak yorumlanır. HER2:CEP17 geni oranının 1,8-2,2'arasında veya eşit olduğu belirsiz (borderline) sonuçların dikkatle yorumlanması gerekir. İlave 20 çekirdek sayın ve oranı yeniden hesaplayın.

### **BOND-III System Klinik Konkordans Özeti**

Leica HER2 FISH System - 30 Test, HER2 geni amplifikasyon durumunun belirlenmesi için kullanılan mevcut metodolojilere karşılık olarak tamamen otomatik bir alternatif sağlamak için geliştirilmiştir. BOND-III System'da Leica HER2 FISH System - 30 Test performansı, 300 meme tümörü numunelerinde Leica HER2 FISH System - 30 Test sonuçlarını Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit Testi ile karşılaştıran bağımsız bir çalışmada değerlendirilmiştir. Bu tümör numunelerinden hiçbiri, Herceptin klinik çalışmalarındaki hastalardan elde edilmemiştir. Sonuçlar, bir 2x2 analize bir % 99,67 konkordans göstermiştir (% 98,16–99,99'luk % 95 güven aralıkları). Konkordans verisi ayrıca, Leica HER2 FISH System - 30 Test ile pozitif bir sonucun büyük ihtimalle Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit testindeki bir pozitif sonuca karşılık geldiğini belirtir. Leica HER2 FISH System - 30 Test, HER2 geni amplifikasyonu için HER2:CEP17 geni oranı 2,0'dan düşük olduğunda negatif ve HER2:CEP17 geni oranı 2,0'dan büyük veya eşit olduğunda pozitif olarak yorumlanır. HER2:CEP17 geni oranının 1,8-2,2'arasında veya eşit olduğu belirsiz (sınır) sonuçların dikkatle yorumlanması gerekir. İlave 20 çekirdek sayın ve oranı yeniden hesaplayın.

## Prosedür Prensipleri

Leica HER2 FISH System - 30 Test formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş dokular için boyuma prosedürüne dayanan bir flüoresan *in situ* hibridizasyonunu tamamlamak için gerekli bileşenler içerir. Uygun ön tedavinin, kullanıma hazır LSI HER2/CEP17 Dual Probe ve uygun stringency yıkaması ile inkübasyonun ardından doku seksiyonları dehidrate edilir ve DAPI ile takılır. Sonuçlar, uygun dalga boylarında önerilen filtreler kullanılarak flüoresan mikroskopi ile yorumlanır.

Leica HER2 FISH System - 30 Test sadece, BOND-MAX and BOND-III System'de kullanılmak içindir.

## Sağlanan Bileşenler

Aşağıda listelenen materyaller (Tablo 1), 30 testin (LSI HER2/CEP17 Dual Probe ile boyanmış 30 lam) boyanması için yeterlidir.

<b>LSI HER2/CEP17 Probe</b> <b>6.6 mL</b>	Kullanıma hazır LSI HER2/CEP17 Dual Probe içerir. < % 60 (v/v) formamid içerir.
<b>Post Hybridization Wash 2</b> <b>9 mL</b>	Kullanıma hazır hibridizasyon sonrası yıkama solüsyonu içerir. < % 50 (v/v) formamid içerir.
<b>BOND Enzyme Concentrate 2</b> <b>1 mL</b>	1.7 mg/mL Proteinase K solüsyonu içerir.
<b>BOND Enzyme Diluent</b> <b>65 mL</b>	Enzim Seyreltici içerir. İçeriyor %0,035 2-metilzotiazol-3(2H)-on.
<b>BOND Open Container</b> <b>3 x 7 mL</b>	BOND Open Container için kullanılır Enzyme 5.

Tablo 1: Leica HER2 FISH System - 30 Test Bileşenleri

Daha detaylı ürün güvenlik bilgileri için [www.LeicaBiosystems.com/TA9217-IFU](http://www.LeicaBiosystems.com/TA9217-IFU) sitesinden münferit MSDS'lere bakınız

## Kullanım Talimatları

Sağlanan tüm reagent'ler, özellikle bu test ile kullanılmak üzere formüle edilmiştir ve lot numaraları her Leica HER2 FISH System - 30 Test için spesifiktir. Testin geçerli olması için değişim yapılmamalıdır.

## Saklama ve Dayanıklılık

2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2–8 °C'ye dönün. Bu koşullardan sapma, testin geçersiz olmasına neden olacaktır. Leica HER2 FISH System - 30 Test, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanıldığından emin olun. Leica HER2 FISH System - 30 Test kontaminasyon ve/veya instabilitesini belirten işaretler, koku gelişiminin ve solüsyonların türbiditesidir (prob solüsyonu için hariç). Kullanıcının, yukarıda belirtilenlerin dışında saklama koşullarını kontrol etmesi gerekir.

## Numune Hazırlığı

Doku işleminin standart yöntemleri, tüm numuneler için kullanılmalıdır (20). Dokuların formalinle fikse edilerek hazırlanması ve rutin olarak işleme alınması ve parafine gömülmesi önerilir. Örneğin numuneler, 3–4 mm'lik bir kalınlıkta örneklenmeli ve 18–24 saat için % 10 nötr tamponlu formalinde sabitlemelidir. Dokular, bir alkol serisinde dehidrate edilmeli ve xylene ile temizlenmeli, ardından erimiş parafin mumu ile impregnasyon yapılmalı ve 60 °C'den daha yüksek sıcaklıkta tutulmamalıdır. Doku numuneleri, 4–6 µm arasında seksiyonlanmalıdır.

Şarjlı lamlara (BOND Plus Slides – ürün kodu S21.2113 veya Apex BOND Slides - ürün kodu 3800040), takılan doku seksiyonları, boyama işleminden önce 2–8 °C'de 12 aya kadar muhafaza edilebilir. Seksiyonlamanın ardından lamaların bir saat için 60 °C'de inkübe edilmesi önerilir. Boyanan seksiyonların, flüoresan sinyalin muhafaza edilmesi ve fadingin önlenmesi için -20 °C'de saklanması gerekir. Okumadan önce saklanan lamaların oda sıcaklığına erişmesini bekleyin.

## Uyarılar ve Önlemler

*Sadece profesyonel kullanıcılar için.*

Üründeki bir veya daha fazla komponent tehlikelidir ve doğmamış bebeğe zarar verebilir.

Kural olarak 18 yaşın altındaki kişilerin bu ürünü kullanmalarına izin verilmez. Kullanıcıların doğru çalışma prosedürü, ürünün tehlikeli özellikleri ve gerekli güvenlik talimatları ile ilgili olarak dikkatli bir şekilde bilgilendirilmeleri gerekir.

Fikse etme işleminden önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon yayabilecek gibi ele alınmalı ve doğru önlemler alınmalıdır.

Reagent'la asla ağızla pipetlenmemeli ve cildin ve mukoz mambbranların reagent ve numunelerle temasından kaçınılmalıdır. Reagent veya numunelerin hassas alanlarla temas etmesi durumunda bu alanları bol su ile yıkayın. Doktora başvurun. Potansiyel tüm toksik komponentlerin imhası için federal, ulusal veya lokal düzenlemelere başvurun.

Reagent'ların mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi durumda nonspesifik boyamada bir artış ortaya çıkabilir.

## Prosedür

### A. Sağlanmayan ancak gerekli reagent'ler

- BOND Dewax Solution (AR9222)
- BOND Epitope Retrieval Solution 1 (AR9961)
- BOND Wash Solution x10 Concentrate (AR9590)
- Testlere dayanan flüoresan *in situ* hibridizasyonda kullanılan standart solventler (örn. etanol, absolut ve dereceli)
- Distile veya deiyonize su
- DAPI Karşıt Boya
- Leica HER2 FISH Control Slides (TA9123)
- BOND Aspirating Probe Cleaning System (CS9100)

### B. Sağlanmayan ancak gerekli ekipman

- Pipetler (1-20 µL ve 100 – 1000 µL hacimleri ölçebilen)
- Şarjlı lamalar (BOND Plus Slides – ürün kodu S21.2113 veya Apex BOND Slides - ürün kodu 3800040)
- BOND-MAX (21.0051) or BOND-III (21.2201)
- BOND Universal Covertiles™ (S21.2001, S21.4583 veya S21.4611)
- BOND Mixing Stations (S21.1971)
- BOND Slide Label & Print Ribbon (S21.4564)
- Lameller
- Kurutma fırını (60 °C sıcaklığı muhafaza edebilen)
- Uygun ışık kaynağına sahip flüoresan mikroskop (60–100x objektif). Bulbun kullanıldığı

saat sayısını kaydedin ve nominal süreyi aşmadan bulbu değiştirin. Lambanın düzgün şekilde ayarlanmış olduğundan emin olun.

- Uygun Flüoresan Filtre Seti (SpectrumOrange™ – 559nm'de Eksitasyon Piki, 588nm'de Emisyon Piki, SpectrumGreen™ – 497nm'de Eksitasyon Piki, 524nm'de Emisyon Piki ve DAPI – 367nm'de Eksitasyon Piki, 452nm'de Emisyon Piki). Leica HER2 FISH System - 30 Test ile kullanılmak üzere optimize edilmiş multibant geçiren flüoresan mikroskop filtre setleri, çoğu mikroskop modelleri için kullanılabilir. Leica HER2 FISH System - 30 Test için önerilen filtre setleri, DAPI/9-Turuncu dual multibant geçiren, DAPI/Yeşil dual bant geçiren, Yeşil/Turuncu(V.2) dual bant geçiren ve DAPI/Yeşil/Turuncu (V.2) triple bant geçiren.

### C. Metodoloji

- Bu metodolojiyi izlemeden önce kullanıcıların, otomatik *in situ* flüoresan tekniğinde uygun şekilde eğitilmiş olmaları gerekir.
- LSI HER2/CEP17 Dual Probe ile boyanmış her test seksiyonu, HER2 ve 17 no'lu sentromer kromozom sinyallerinin aynı hücre analizini etkinleştirir. 17 no'lu kromozom sinyallerinin ardından gelen bir oran, örneğe atanacak ve negatif (güçlendirilmemiş) veya pozitif (güçlendirilmiş) bir sonuç belirten sayısal bir değeri etkinleştirecektir. Belirsiz (borderline) sonuçların (1.8-2.2) dikkatle yorumlanması gerekir. İlave 20 çekirdek sayın ve oranı yeniden hesaplayın.

### D. Tedavi Öncesi Bond Enzyme

Boyamadan önce sağlanan BOND Enzyme Concentrate 2'yi 1:300 dilüsyonda sağlanan BOND Enzyme Diluent ile sağlanan BOND Open Container'larından birinde dilüe edin. Örneğin, 10 lamı boyamak için 10 µL BOND Enzyme Concentrate 2'yi 2990 µL BOND Enzyme Diluent içinde dilüe ederek 3 mL çalışma enzim solüsyonu hazırlayın. Enzimin, her boyama çalıştırmasından önce ve her çalıştırma başına minimum 900 µL hacim kullanılacak şekilde yeni hazırlanması önerilir.

### E. Varsayılan Boyama Protokolü

Leica HER2 FISH System - 30 Test, aşağıdaki Tablo 2'de gösterilen önerilen varsayılan boyama protokolü ile kullanılması önerilir.

Protokol Tipi	Protokol Adı
Boyama	*FISH Protocol A
Hazırlık	*Dewax
HIER	*HIER 25 min with ER1 (97)
Enzim	*Enzyme 5 for 25 min
Denaturasyon	*D10
Hibridizasyon	*ISH Hybridization (12Hr)

Tablo 2: Varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test Boyama Protokolü

### F. Prosedür Adımları

Bu talimatlar, BOND-MAX and BOND-III System kullanım kılavuzu ile birlikte okunmalıdır. Her lam için yeni bir BOND Universal Covertile kullanılmalıdır.

Önceden immünohistokimyasal veya *in situ* hibridizasyon boyama için kullanılan BOND Universal Covertile'lerin kullanılması, bu test ile doğrulanmamıştır.

1. BOND-MAX and BOND-III System bulk ve tehlikeli atık konteynerlerinin, gerekli boyama çalıştırmalarının gerçekleştirilmesi için yeterli kapasitesi olduğundan emin olun.
2. Gerekli boyama çalıştırmalarının gerçekleştirilmesi için bulk reagent konteynerlerinde uygun alkol, distile veya deiyonize su, BOND Dewax Solution, BOND Epitope Retrieval Solution 1 ve BOND Wash Solution olduğundan emin olun.
3. Temiz bir BOND Mixing Station'ın yerleştirildiğinden emin olun.
4. BOND-MAX and BOND-III System için.

5. BOND-MAX and BOND-III System bağlı PC'yi açın.
6. BOND yazılımını açın.
7. Yeni bir Leica HER2 FISH System - 30 Test kiti için reagent tabla barkodunu, sistemi BOND reagent envanterine (sadece tek bir barkod) sokmak için el tarayıcısı ile tarayın.
8. BOND Enzyme 5'i sağlanan BOND Open Container'da 1:300 dilüsyon ile hazırlayın. Örneğin, 10 lam için 10µL BOND Enzyme Concentrate 2'yi 2990 µL BOND Enzyme Diluent'e ekleyin.
9. Sağlanan BOND Open Container'da tarayın ve **Bond Enzyme 5** olarak kaydedin.
10. Slide setup (Lam ayarı) ekranına gidin ve **Add case** (Vaka ekle) üzerine tıklayın.
11. İlk vaka için detayları girin. Dağıtım hacminin **150 µL** olarak ayarlandığından ve hazırlık protokolünün **\*Dewax** olduğundan emin olun. **OK** (Tamam) üzerine tıklayın.
12. Slide setup (Lam ayarı) ekranında vaka aktifken **Add slide** (Lam ekle) üzerine tıklayın.
13. Öncelikle hasta test lamaları ekleyin. Doku tipinin **Test tissue** (Test dokusu) olarak ayarlandığından emin olun.
14. **Single** (Tek) boyama modunu seçin.
15. **ISH** işlemini seçin.
16. Prob listesinden **\*LSI HER2/CEP17 Dual Probe – 30 Test** opsiyonunu seçin. Protocols (Protokoller) sekmesinde varsayılan olarak doğru boyama protokolü (**\*FISH Protocol A**), HIER protokolü (**\*HIER 25 min with ER1 (97)**), EIER protokolü (**\*Enzyme 5 for 25 min**), denaturasyon (**\*D10**) ve hibridizasyon (**\*ISH Hybridization (12Hr)**) mevcuttur.
17. Hasta test lamaları ve kontroller (Leica HER2 FISH Control Slides ve/veya dahili kontroller) oluşturulana kadar 10 - 16 adımlarını tekrarlayın. Lam etiketlerini yazdırın.
18. Lamaları uygun şekilde etiketleyin.
19. Tüm Leica HER2 FISH System - 30 Test konteynerlerinin kapaklarını açın ve reagent tablasını BOND-MAX and BOND-III System'a yükleyin.
20. Her lama yeni Covertile'ler uygulayın.
21. Lam tablasını BOND-MAX and BOND-III System'a yükleyin ve **Load/Unload** (Yükle/Kaldır) tuşuna basın.
22. Lamaların taranmış olduğunu kontrol edin ve çalıştırmayı hemen başlatmak için System durum ekranındaki **Run (Play)** (Çalıştır (Oynat)) tuşuna tıklayın (Leica HER2 FISH System - 30 Test için bu testin, gecikmeli başlatma fonksiyonu kullanılarak gece saatlerinde çalıştırılması önerilir).
23. Tabla gösterge alanında **Proc (OK)** (Prok (Tamam)) ve seri numarası ile sonlanma saatinin görüntülediğinden emin olun.
24. Çalıştırma tamamlandığında **Load/Unload** (Yükle/Kaldır) tuşuna basın ve lam tablasını BOND-MAX and BOND-III System'den kaldırın.
25. Covertile'leri kaldırın ve lamaları deiyonize suda yıkayın.
26. İki defa alkol değişiminde, hava kurumasında hızlıca dehidrate edin.
27. 20µL'lik DAPI'yi doğrudan örneklerle dağıtın.
28. Lamel uygulayın ve hava kabarcıklarının yok edilmesine dikkat ederek solüsyonun tamamen dağılmasını sağlayın.
29. Lamelin kenarını tırnak boyasıyla veya benzer bir materyalle yapıştırın.
30. Flüoresan mikroskop altında görüntülemeye önce sinyal gelişimini kolaylaştırmak için lamaları karanlığa yerleştirin.
31. Sinyal intensitesini muhafaza etmek için boyalı lamaları -20 °C'de saklayın.

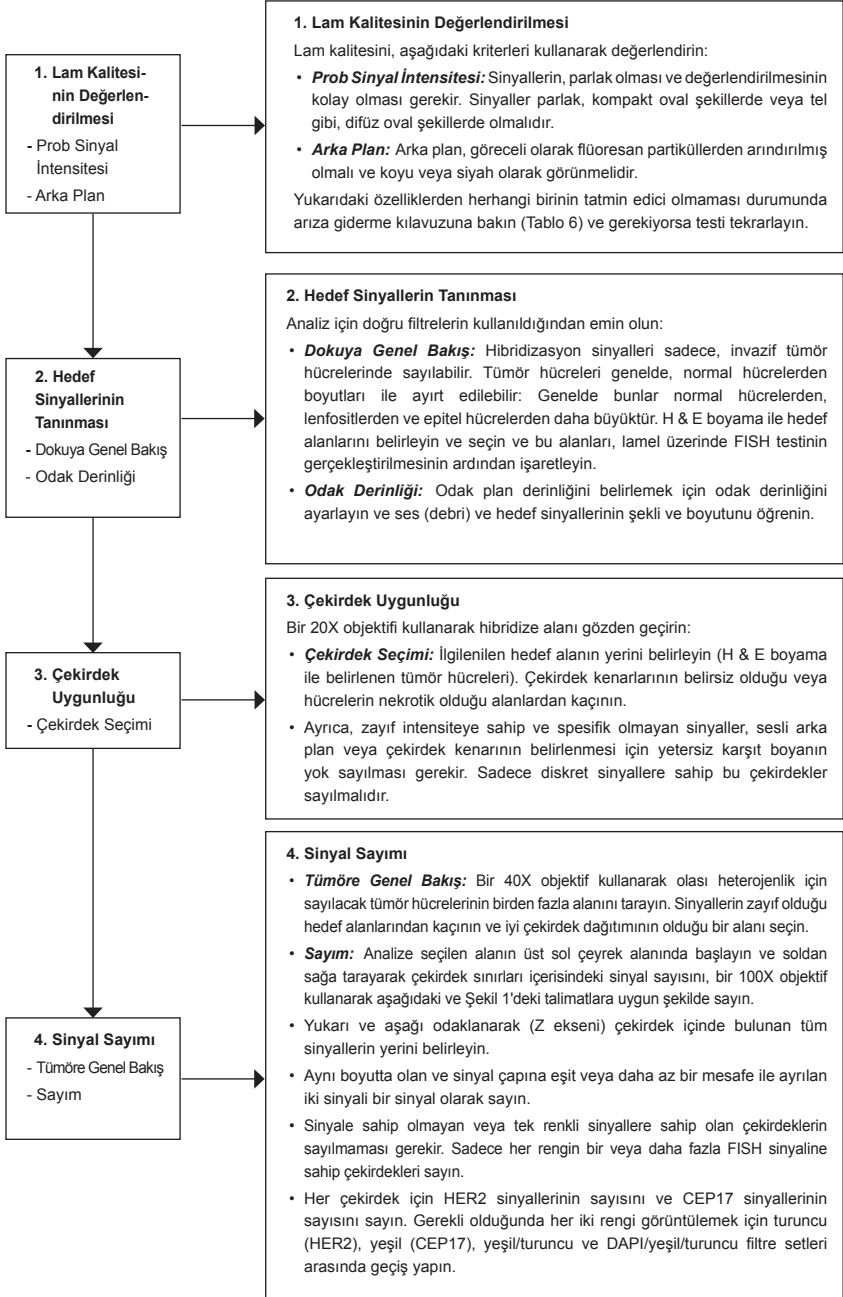
## G. Lam Saklama

Boyalı lamaları karanlıkta -20 °C'de saklayın. -20 °C'den düşüş sonrasında görüntüleme yapmadan önce lamaların oda sıcaklığına erişmesini bekleyin.



# Sinyal Değerlendirmesi ve Sayımı

Sinyal kalitesini değerlendirmek ve HER2 ve CEP17 sinyallerini saymak için aşağıdaki işlemi izleyin:



## LSI HER2 için CEP17 Oran Belirlemede Önerilen Yöntem

LSI HER2'yi CEP17 oranında belirlemek için aşağıdaki yöntemi kullanın:

1. 20 çekirdekte LSI HER2 ve CEP17 sinyallerinin sayısını kaydedin ve belirleyin (aşağıdaki Şekil 2 Leica HER2 FISH System skor sayfasına bakınız).
2. Tüm LSI HER2 sinyallerinin toplamı. Bu, sayım için toplam LSI HER2 sinyalini gösterir; örn. 143.
3. Tüm CEP17 sinyallerinin toplamı. Bu, sayım için toplam CEP17 sinyalini gösterir; örn. 48.
4. Final sonucu hesaplamak için şu hesaplamayı kullanın: Toplam CEP17 sinyaline bölünen Toplam LSI HER2 sinyali; örn. 143/48, HER2 amplifikasyonu için pozitif olan bir 2.98 oranına eşittir.

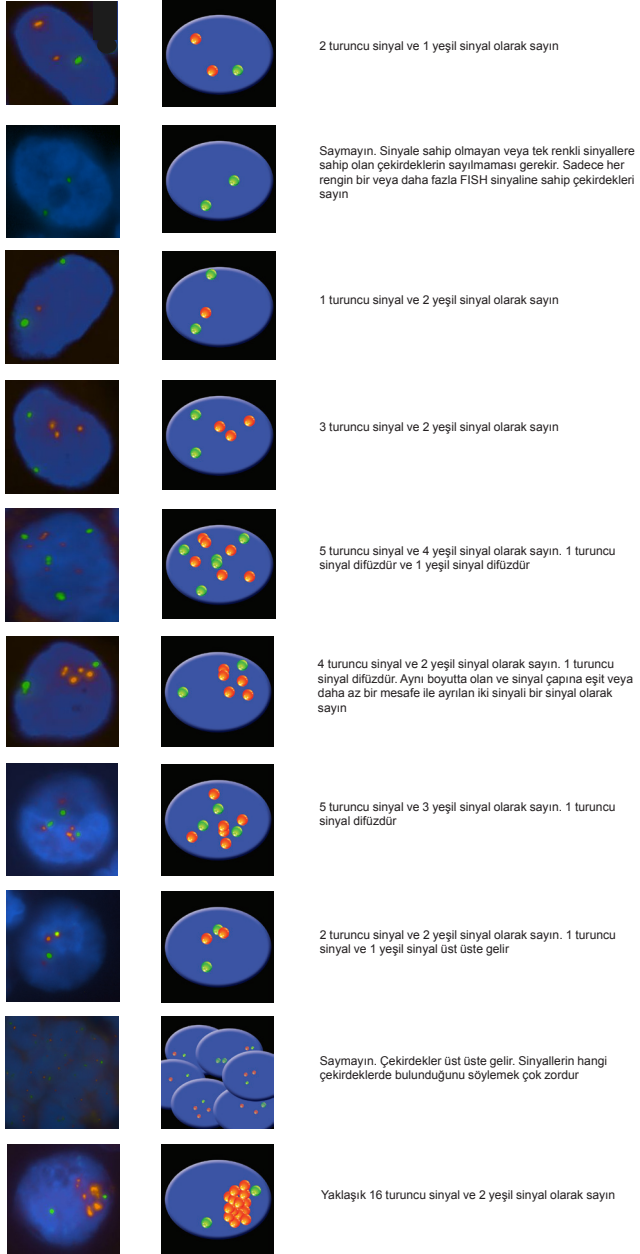
**Önemli Not: CEP17'ye LSI HER2 oranı belirsiz ise (1.80 - 2.20), ilave 20 çekirdek sayın ve oranı yeniden hesaplayın.**

Sonuçlar, aşağıdaki şekilde raporlanmalıdır:

1. Oran  $<2$  ise HER2 geni amplifikasyonu incelenmemiştir
2. Oran  $\geq 2$  ise HER2 geni amplifikasyonu incelenmiştir

**Önemli Not: Cut-off'taki veya yakınındaki bir oranın (1.80 - 2.20), yukarıda açıklandığı gibi dikkatli şekilde yorumlanması gerekir.**

# Leica HER2 FISH System - 30 Test Yorumlama Kılavuzu



Şekil 1: Yorumlama Kılavuzu

# Leica HER2 FISH System - 30 Test Örnek Skor Sayfası

20 Çekirdek Sinyal Sayımı					
Çekirdek #	HER2 Kopya Numarası	CEP17 Kopya Numarası	Çekirdek #	HER2 Kopya Numarası	CEP17 Kopya Numarası
1			11		
2			12		
3			13		
4			14		
5			15		
6			16		
7			17		
8			18		
9			19		
10			20		
Toplam 1-10			Toplam 11-20		

	HER2	CEP17	HER2:CEP17 Amplifikasyon oranı
<b>Toplam Skor 1-20</b>			
<b>Hücre Başına Ortalama</b>			

Şekil 2: Örnek Skor Sayfası

## HER2 FISH Belirlemesi için Otomatik Ariol Yöntemi

Ariol PathVysion dijital puanlama uygulamasının yorumlamaya yardımcı olarak kullanılması Leica HER2 FISH System - 30 Test ile kullanım için farklı numune kohortlarında bağımsız olarak doğrulanmıştır. Ariol PathVysion® dijital puanlama uygulaması, Leica HER2 FISH System - 30 Test ile birlikte kullanıldığında İn Vitro Tanılama Kullanımı içindir. Leica HER2 FISH System - 30 Test ile kullanıldığı zaman, Ariol PathVysion uygulaması Leica HER2 FISH Control Slides (TA9123) ile **değil**, doku kontrol slaytları ile kullanım için kalibre edilmelidir.

**Tüm tanı kararları nitelikli bir klinisyen tarafından alınır.**

Daha fazla bilgi için lütfen Ariol Operatör kılavuzuna başvurun.

## Kalite Kontrol

### Kontrol Lamlarının Kullanılması

Test performansını izlemek ve sinyal sayımı hassasiyetini değerlendirmek için Leica HER2 FISH Control Slide her test çalıştırmasının içine dahil edilmesi önerilir. Kontrol lamlarının, BOND-MAX and BOND-III System'de ve her yeni reagent lotunda her boyama serisi için çalıştırılması gerekir. Ayrıca münferit kullanıcılar, kendi kontrol materyallerini kullanmayı seçebilir.

Kontrol lamı kalitesini değerlendirin ve **Sinyal Değerlendirmesi ve Sayımı** bölümündeki talimatlara uygun olarak sinyal sayımını gerçekleştirin. Lam kalitesi için kriterlerin karşılanması gerekir ve HER2:CEP17 oranı sonuçları, kabul edilebilir test performansı için belirlenen aralıklar arasında olmalıdır. Leica HER2 FISH Control Slides kabul kriterleri için Tablo 3'e bakınız.

Hücre Hattı	Bond Oracle HER2 IHC System Profili	Hücre başına HER2 Reseptör Yükü*	Leica HER2 FISH System - 30 Test HER2:CEP17 Kabul Kriteri
SKBr-3	3+	$4.3 \times 10^5$	HER2 amplifikasyonu incelenmiştir
MDA-MB-453	2+	$1.4 \times 10^5$	HER2/CEP17 gen oranının, 1.5 – 2.5 arasında olması gerekir
MDA-MB-175	1+	$6.3 \times 10^4$	HER2 amplifikasyonu incelenmemiştir
MDA-MB-231	0	$9.3 \times 10^3$	HER2 amplifikasyonu incelenmemiştir

\*Akış sitometrisi tarafından değerlendirildiği gibi HER2 reseptör yük analizi

Tablo 3: Leica HER2 FISH Control Slide Yorumlaması.

Test kontrollerinin başarısız olması durumunda bu vaka için FISH sonuçlarının raporlanmaması gerekir. Kontrol lamlarının, lam kabul kriterlerini karşılamaması durumunda Leica HER2 FISH System - 30 Test yetersiz şekilde çalışabilir. Bu durumda yeni kontrol lamları ve hasta numune lam(lar) ile bir tekrar testi gerekli olacaktır. Sonuçların, belirtilen aralığın dışında olması ancak kontrol lamlarının kalite için kabul kriterlerini karşılamaması durumunda aynı lamin taramasının tekrarlanması, sayım doğru şekilde yapılmamış olabileceğinden uygun olacaktır. Numune veya kontrol lam(lar)ıyla hibridizasyonun başarısız olması durumunda arıza giderme kılavuzuna (Tablo 6) bakınız.

Klinik numuneler için hibridizasyon sinyalinin yorumlanması zor olduğunda ve tekrar testi için yetersiz numune örneği olduğunda test bilgi verici değildir. Analiz için yetersiz hücre olması durumunda test bilgi verici değildir.

Hasta numunelerinin, standart laboratuvar çalışma prosedürlerine uygun olarak kontrol edilmesi gerekir. Sinyal kalitesi ve sayım sonuçlarının, uygun bir rapor formunda dokümanite edilmesi gerekir.

## Sınırlamalar

### A. Genel Sınırlamalar

FISH, prosedürün (uygun reagent, doku, fikse etme, işleme ve lam hazırlığının seçilmesi dahil) ve yorumlamanın her durumunda uzmanlık eğitimi gerektiren bir tekniktir. Doku boyama, boyama işleminden önce dokunun ele alınması, fikse edilmesi ve işleme alınmasına bağlıdır. Diğer dokularla veya akışkanlarla hatalı fikse etme, dondurma, eritme, yıkama, kurutma, ısıtma, seksiyonlama veya kontaminasyon morfolojik artefaktlar, nükleik asit degradasyon, arka plan flüoresansı veya yanlış negatif sonuçlar oluşturabilir. Doku içerisinde fikse etme, gömme yöntemleri veya inherent aksaklıklar nedeniyle tutarsız sonuçlar ortaya çıkabilir (21). Aşırı veya yetersiz karşıt boya da sonuçların doğru yorumlanmasına engel olabilir.

Bağlantısız probun bir sonucu olarak spesifik olmayan boyama saçılan, granüler bir görünüme sahiptir ve tahmin edilen hibridizasyon bölgesinde veya bu bölgeden uzakta görüntülenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanın. Nekrotik veya dejenere hücreler, belirsiz şekilde boyanabilir (22). Beklenmedik FISH boyama veya boyamadaki varyasyonlar, kodlama genlerinin ifade seviyelerindeki alterasyonların bir sonucu olabilir. Tahmin edilen boyama paternlerindeki herhangi bir değişiklik, tüm diğer diagnostik tetkikleri ile birlikte yorumlanmalıdır. Boyama yorumlaması, morfolojik çalışmalarla ve uygun kontrol materyalinin kullanımını ile tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

Testin performansı (yani kontrol materyallerinin uygunluk değerlendirmesi) ve boyama olmasının veya olamamasının yorumlanması, uygun şekilde ruhsatlandırılmış/lisanslanmış bir laboratuvarında *in situ* hibridizasyon testinin tüm değerlendirmesinden ve yorumlanmasından sorumlu uygun vasıflara sahip ve deneyimli bir patolojistin gözetiminde gerçekleştirilmelidir. Proben diğer nükleik asit sekanlarına ve/veya nonspesifik bağlamaya karşı reaktivitesi nedeniyle FISH altında yanlış pozitif sonuçlar ortaya çıkabilir. Uygun kontroller kullanılmalı ve dokümanite edilmelidir ve testler, geçerli tüm son kullanma tarihlerini dikkate alınmalıdır.

Teknik ve yorumsal varyasyon, FISH'in materyallerden derive edilen hücre hattında kullanılması durumunda da görülebilir (23).

### B. Ürüne Özel Sınırlamalar

Bu ürün, diğer DNA bazlı diagnostik testlerinde kullanılmak için tasarlanmamıştır.

Leica HER2 FISH System - 30 Test reagent'lerini, Leica Biosystems veya diğer üreticiler tarafından sağlanan diğer komponentlerle değiştirmeyin. Bunun yapılması, testi geçersiz kılacaktır. Kullanıcının, önerilen prosedürlerden her türlü sapmayı doğrulaması gerekir.

Testte sadece formalinle fikse edilmiş dokuların kullanılması önerilir. Başka bir fikse etme tipinin kullanılması, testi geçersiz kılabilir.

Önerilen kalınlık aralığının dışında kesilmiş doku seksiyonları doğrulanmamıştır. Başka bir seksiyon kalınlığının kullanılması, testi geçersiz kılabilir.

### Leica HER2 FISH System - 30 Test Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit'e Klinik Konkordansı - Meme

Bu çalışma, Leica HER2 FISH System - 30 Test Herceptin (trastuzumab) tedavisi için tedavinin belirlenmesinde bir yardımcı olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Çalışma, Leica HER2 FISH System - 30 Test meme dokusundaki bu test için 'altın standart' olarak değerlendirilir ele alınan önceden onaylanmış Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit diagnostik cihazının arasındaki konkordansın incelenmesi için tasarlanmıştır. Test kabul kriteri, Leica HER2 FISH System - 30 Test ile manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit arasında pozitif (güçlendirilmiş) ve negatif (güçlendirilmemiş) formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş (FFPE) invazif meme kanseri vakalarında %95'lik tek taraflı güvenilirlik aralığının %90'ın üzerinde olmasıdır.

Çalışma, klinik invazif meme kanseri örneklerinin üç bölgeyi maskeli bir değerlendirmesi olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma aşamasındaki bölgelerin her biri, bilinen HER2 onkoprotein ifade seviyeleri ile arşivlenmiş formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş invazif meme kanseri doku blokları ile sağlanır. Önceden karakterize edilmiş 75, 0/1+; önceden karakterize edilmiş 150, 2+ ve önceden karakterize edilmiş 75, 3+ IHC vakalarından oluşan 300 numunelik bir kohort seçilmiş ve üç araştırma aşamasındaki deneme bölgelerinin her birine eşit şekilde ayrılmıştır.

Tüm vakalar, manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit testi ile prospektüste belirtildiği gibi üreticinin kullanım talimatlarına uygun şekilde boyanmıştır. Her vakadan sekansiyel seksiyonlar, BOND-MAX and BOND-III System Leica HER2 FISH System - 30 Test ile boyanmıştır. Tüm boyanmış lamalar, üç araştırma aşamasındaki deneme bölgesinin her birinde tek bir eğitilmiş gözlemci tarafından maskelenmiş ve randomize bir şekilde sayılmıştır. Skorlar, hesaplanan HER2/CEP17 gen oranı  $<2.0$  olduğunda negatif ve hesaplanan HER2/CEP17 gen oranı  $\geq 2.0$  olduğunda pozitif olarak yorumlanmıştır. Daha sonrasında veri konkordans, pozitif boyama anlaşması ve negatif boyama anlaşması için analiz edilmiştir.

### BOND-MAX System 2x2 Konkordans Sonuçları - Meme

Veri, bir 2x2 analiz için negatif ( $<2.00$ ) veya pozitif ( $\geq 2.00$ ) olarak gruplanmıştır. Bir 2x2 analizinde iki test arasında 300 örnek için incelenen anlaşma, BOND-MAX System için % 97.61–99.92'lik bir % 95 CI ile % 99.33'lük (298/300) bir konkordans gösterir

Pozitif Sözleşme oranı (hassaslık) veya Leica HER2 FISH System - 30 Test Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe testi pozitif vakalarını doğru şekilde tanımlama yeteneği (Leica HER2 FISH System - 30 Test ve manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit tarafından tüm Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit pozitif vakalarının dışında pozitif sayılan numunelerin oranı) % 99.03 (102/103) olmuştur.

Negatif Sözleşme oranı (özgüllük) veya testin Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatif vakalarını doğru şekilde tanımlama yeteneği (Leica HER2 FISH System - 30 Test ve manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit tarafından tüm Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatif vakalarının dışında negatif sayılan numunelerin oranı) % 99.49 (196/197) olmuştur. Bakınız Tablo 4.

		Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit		
		Negatif ( $<2.0$ )	Pozitif ( $\geq 2.0$ )	Toplam
Leica HER2 FISH System - 30 Test BOND-MAX	Negatif ( $<2.0$ )	196	1	197
	Pozitif ( $\geq 2.0$ )	1	102	103
	Toplam	197	103	300

Toplam Konkordans (% 95 CI) = % 99.33 (% 97.61 – 99.92)

Tablo 4. BOND-MAX System'de Leica HER2 FISH System - 30 Test Meme dokusunda Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Prob Kiti ile BOND-MAX Sisteminde.

## BOND-III System 2x2 Konkordans Sonuçları - Meme

Veri, bir 2x2 analiz için negatif (<2.00) veya pozitif (≥2.00) olarak gruplanmıştır. Bir 2x2 analizinde iki test arasında 300 örnek için incelenen anlaşma, BOND-III System için % 98.16–99.99'luk bir % 95 CI ile % 99.67'lik (299/300) bir konkordans gösterir

Pozitif Sözleşme oranı (hassaslık) veya Leica HER2 FISH System - 30 Test Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit testi pozitif vakalarını doğru şekilde tanımlama yeteneği (Leica HER2 FISH System - 30 Test ve manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit tarafından tüm Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit pozitif vakalarının dışında pozitif sayılan numunelerin oranı) % 99.03 (102/103) olmuştur.

Negatif Sözleşme oranı (özgüllük) veya testin Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatif vakalarını doğru şekilde tanımlama yeteneği (Leica HER2 FISH System - 30 Test ve manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit tarafından tüm Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatif vakalarının dışında negatif sayılan numunelerin oranı) % 100 (197/197) olmuştur. Bakınız Tablo 5.

		Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit		
		Negatif (<2.0)	Pozitif (≥2.0)	Toplam
Leica HER2 FISH System - 30 Test BOND-III	Negatif (<2.0)	197	1	198
	Pozitif (≥2.0)	0	102	102
	Toplam	197	103	300

Toplam Konkordans (% 95 CI) = % 99.67 (% 98.16 – 99.99)

Tablo 5. BOND-III System'de Leica HER2 FISH System - 30 Test Meme dokusunda Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Prob Kiti ile BOND-III Sisteminde.

Sonuç olarak bu çalışmada oluşturulan veri, Leica HER2 FISH System - 30 Test bu gösterge için önceden onaylanmış bir diagnostik testi olan Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit ile yüksek konkordansına bağlı olarak Herceptin (trastuzumab) tedavisinin göz önüne alındığı hastaların tedavisinde bir yardımcı olarak kullanılabilirdiğini göstermektedir.



## Leica HER2 FISH System - 30 Test'in Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit'e Klinik Konkordansı - Gastrik

Bu çalışma, Leica HER2 FISH System - 30 Test'in Herceptin (trastuzumab) tedavisi için tedavinin belirlenmesinde bir yardımcı olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Çalışma, Leica HER2 FISH System - 30 Test ile gastrik dokuda bu test için 'altın standart' olarak ele alınan önceden onaylanmış Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit diagnostik cihazının arasındaki konkordansın incelenmesi için tasarlanmıştır. Test kabul kriteri, Leica HER2 FISH System - 30 Test ile manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit arasında pozitif (güçlendirilmiş) ve negatif (güçlendirilmemiş) formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş (FFPE) mide adenokarsinomlarında (gastroözofageal bileşim dahil) %95'lik tek taraflı güvenilirlik aralığının %90'ın üzerinde olmasıdır.

Çalışma klinik invazif gastrik adenokarsinom örneklerinin değerlendirilmesi olarak gerçekleştirilmiştir. Test bilinen HER2 gen ifade seviyesine sahip formalin-sabit, parafine gömülmüş gastrik adenokarsinom doku bloklarında gerçekleştirilmiştir. 50 büyütülmüş vakadan ve 59 büyütülmemiş vakadan oluşan 109 numune topluluğu.

Tüm vakalar, manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit testi ile prospektüste belirtildiği gibi üreticinin kullanım talimatlarına uygun şekilde boyanmıştır. Her vakadan sekansiyel seksiyonlar, BOND-MAX System'de Leica HER2 FISH System - 30 Test ile boyanmıştır.

Tüm boyalı slaytlar tek bir eğitilmiş gözlemci tarafından rastgele bir şekilde skorlanmıştır. Skorlar, hesaplanan HER2/CEP17 gen oranı  $<2.0$  olduğunda negatif ve hesaplanan HER2/CEP17 gen oranı  $\geq 2.0$  olduğunda pozitif olarak yorumlanmıştır. Daha sonrasında veri konkordans, pozitif boyama anlaşması ve negatif boyama anlaşması için analiz edilmiştir.

### 2x2 Konkordans Sonuçları BOND-MAX Sistemi - Gastrik

Veri, bir 2x2 analiz için negatif ( $<2.00$ ) veya pozitif ( $\geq 2.00$ ) olarak gruplanmıştır. Bir 2x2 analizinde iki test arasında 109 örnek için incelenen anlaşma BOND-MAX Sistemi için %93.53–99.78 ile %95 CI ile %98,17 (107/109) konkordans göstermiştir. Pozitif Sözleşme oranı (hassaslık) veya Leica HER2 FISH System - 30 Test'in Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe testi pozitif vakalarını doğru şekilde tanımlama yeteneği (Leica HER2 - FISH System - 30 Test ve manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit tarafından tüm Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit pozitif vakalarının dışında pozitif sayılan numunelerin oranı) % 96.00 (48/50) olmuştur.

Negatif Sözleşme oranı (özellik) veya testin Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatif vakalarını doğru şekilde tanımlama yeteneği (Leica HER2 FISH System - 30 Test ve manuel Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit tarafından tüm Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit negatif vakalarının dışında negatif sayılan numunelerin oranı) % 100 (59/59) olmuştur. Bakınız Tablo 6.

		Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit		
		Negatif ( $<2.0$ )	Pozitif ( $\geq 2.0$ )	Toplam
Leica HER2 FISH Sistemi - 30 Test BOND-MAX	Negatif ( $<2.0$ )	59	2	61
	Pozitif ( $\geq 2.0$ )	0	48	48
	Toplam	59	50	109

Toplam Konkordans (%95 CI) = %98.17 (%93.53–99.78)

Tablo 6. BOND-MAX System'de Leica HER2 FISH System - 30 Test'in gastrik dokuda Abbott Molecular PathVysion HER-2 DNA Probe Kit ile 2x2 konkordansı.

## Hassasiyet Testi – BOND-MAX System

### A. Çalıştırma İçerisinde Hassasiyet Çalışması

Çalıştırma içerisinde hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test çalıştırma içerisinde hassasiyet testi, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 540 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Çalıştırma içerisinde hassasiyetin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, tek bir çalıştırma içerisinde tek bir enstrümanda daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Çalıştırma İçerisinde Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 532/540 vaka, % 97.10'luk daha düşük bir % 95 CI ile % 98.52'lik toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

### B. Enstrüman İçerisinde Hassasiyet Çalışması

Enstrüman içerisinde hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test enstrüman içerisinde hassasiyet testi, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 1620 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Enstrüman içerisinde hassasiyetin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, birden fazla çalıştırma içerisinde tek bir enstrümanda daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Enstrüman İçerisinde Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 1620/1620 vaka, % 99.82'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 100'lük toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

### C. Çalıştırma Arasında Hassasiyet Çalışması

Çalıştırma arasında hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test çalıştırma arasında hassasiyet testi, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 900 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Günden güne hassasiyet testi, çalıştırma arasında hassasiyetin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, farklı günlerde birden fazla çalıştırmalar arasında test edilecek daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Çalıştırma Arasında Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 894/900 vaka, % 98.55'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 99.33'lük toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

### D. Laboratuvar Arasında Hassasiyet Çalışması

Laboratuvar arasında hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test laboratuvar arasında hassasiyet testi, üç araştırma aşamasındaki bölge arasında formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 513 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Laboratuvar arasında hassasiyet testinin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, birden fazla enstrümanda çalıştırmalar arasında test edilecek daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Laboratuvar Arasında Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 510/513 vaka, % 98.30'luk daha düşük bir % 95 CI ile % 99.42'lik toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

### E. Gözlemci Arasında Hassasiyet Çalışması

Gözlemci arasında hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test gözlemci arasında tekrarlanabilirlik testi, üç araştırma aşamasındaki bölge arasında değerlendirilmiştir. Her araştırma aşamasındaki bölgede tek bir deneyimli gözlemci kullanılmıştır. On sekiz seksiyon meme kanseri vakasının tümü, gözlemci hassasiyeti arasında klinik ayarda kullanılan örnek tiplerini yansıtarak kullanılmak üzere kullanılmıştır.

Gözlemci Arasında Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 53/54 vaka, % 90.11'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 98.15'lik toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

## F. Lot'a Lot Hassasiyet Çalışması

Lot'a lot hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Lot'a lot hassasiyet, Leica HER2 FISH System - 30 Test Good Manufacturing Practice (GMP) (Iyi İmalat Uygulamaları) altında bağımsız olarak üretilmiş üç lotunda belirlenmiştir. Her lot, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 540 HER2 TMA örneğinde test edilmiştir. Lot'a lot tekrarlanabilirliğinin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, lotlar arasında test edilecek daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Lot'a Lot Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 534/540 vaka, % 97.60'lık daha düşük bir % 95 CI ile % 98.89'luk toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

## Hassasiyet Testi – BOND-III System

### G. Çalıştırma İçerisinde Hassasiyet Çalışması

Çalıştırma içerisinde hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test çalıştırma içerisinde hassasiyet testi, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 540 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Çalıştırma içerisinde hassasiyetin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, tek bir çalıştırma içerisinde tek bir enstrümanda daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Çalıştırma İçerisinde Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 540/540 vaka, % 99.45'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 100'lük toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

### H. Enstrüman İçerisinde Hassasiyet Çalışması

Enstrüman içerisinde hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test enstrüman içerisinde hassasiyet testi, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 1620 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Enstrüman içerisinde hassasiyetin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, birden fazla çalıştırma içerisinde tek bir enstrümanda daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Çalıştırma İçerisinde Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 1620/1620 vaka, % 99.82'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 100'lük toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

### I. Çalıştırma Arasında Hassasiyet Çalışması

Çalıştırma arasında hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test çalıştırma arasında hassasiyet testi, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 900 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Günden güne hassasiyet testi, çalıştırma arasında hassasiyetin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, farklı günlerde birden fazla çalıştırmalar arasında test edilecek daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Çalıştırma Arasında Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamların sayımında değerlendirilen 891/900 vaka, % 98.11'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 99.00'lık toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

## J. Laboratuvar Arasında Hassasiyet Çalışması

Laboratuvar arasında hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test laboratuvar arasında hassasiyet testi, üç araştırma aşamasındaki bölge arasında formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 513 HER2 TMA örneğinde değerlendirilmiştir. Laboratuvar arasında hassasiyet testinin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, birden fazla enstrümanda çalıştırmalar arasında test edilecek daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Laboratuvar Arasında Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamaların sayımında değerlendirilen 511/513 vaka, % 98.60'lık daha düşük bir % 95 CI ile % 99.61'lik toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

## K. Gözlemci Arasında Hassasiyet Çalışması

Gözlemci arasında hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Leica HER2 FISH System - 30 Test gözlemci arasında tekrarlanabilirlik testi, üç araştırma aşamasındaki bölge arasında değerlendirilmiştir. Her araştırma aşamasındaki bölgede tek bir deneyimli gözlemci kullanılmıştır. On sekiz seksiyon meme kanseri vakasının tümü, gözlemci hassasiyeti arasında klinik ayarda kullanılan örnek tiplerini yansıtarak kullanılmak üzere kullanılmıştır.

Gözlemci Arasında Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamaların sayımında değerlendirilen 53/54 vaka, % 90.11'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 98.15'lik toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

## L. Lot'a Lot Hassasiyet Çalışması

Lot'a lot hassasiyet çalışması, randomize ve karışık bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Lot'a lot hassasiyet, Leica HER2 FISH System - 30 Test Good Manufacturing Practice (GMP) (İyi İmalat Uygulamaları) altında bağımsız olarak üretilmiş üç lotunda belirlenmiştir. Her lot, tek bir araştırma aşamasındaki bölgede formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş meme kanseri vakalarını içeren önceden karakterize edilmiş 540 HER2 TMA örneğinde test edilmiştir. Lot'a lot tekrarlanabilirliğinin belirlenmesi için TMA'ların kullanılması, lotlar arasında test edilecek daha geniş bir HER2 ifadesini içeren daha geniş bir vaka hacmini etkinleştirmiştir.

Lot'a Lot Hassasiyet Çalışması'nda boyanan lamaların sayımında değerlendirilen 540/540 vaka, % 99.45'lik daha düşük bir % 95 CI ile % 100'lük toplam bir konkordans veren uyumlu bir sonuç göstermiştir.

## Test Sağlamlığı

Sağlamlık çalışmaları, BOND-MAX and BOND-III System'de ısı retrieval süresi ve sıcaklık; enzim retrieval süresi, sıcaklık ve konsantrasyon; denaturasyon süresi ve sıcaklık; hibridizasyon süresi ve sıcaklık; ve stringency yıkama süresi ve sıcaklık için test tolerans aralığının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Varsayılan BOND-MAX and BOND-III System protokolünü kullanan sağlamlık çalışmaları ayrıca, sıcaklık ve nemlilik için ORA LAB5.3 Rev1.7 FDA/ORA kılavuz dokümanında tanımlandığı gibi önerilen sınırların dışında gerçekleştirilmiştir.

- Her ısıya bağlı adım için varsayılan sıcaklık, varsayılanla karşılaştırıldığında 4 °C artırıldığında veya 4 °C azaltıldığında amplifikasyon durumunda farklılık gözlemlenmemiştir Leica HER2 FISH System protokolü. Varsayılan sıcaklıklarda en yüksek kalitede oranlar gözlemlenmiştir ve bu sıcaklıklar önerilir.
- Isı induced epitop retrieval (HIER) süresi, 20 dakika ve 30 dakika için 97 °C'de BOND ER1 solüsyonu ile gerçekleştirildiğinde amplifikasyon durumunda varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test protokolü ile karşılaştırıldığında farklılık gözlemlenmemiştir. 25 dakikalık varsayılan sürede en yüksek kalite oranları gözlemlenmiştir ve bu inkübasyon süresi önerilir.
- Enzim induced epitop retrieval (EIER) süresi, 15 dakika ve 35 dakika için 37 °C'de gerçekleştirildiğinde amplifikasyon durumunda varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test protokolü ile karşılaştırıldığında farklılık gözlemlenmemiştir. 25 dakikalık varsayılan sürede en yüksek kalite oranları gözlemlenmiştir ve bu inkübasyon süresi önerilir.
- Enzim induced epitop retrieval (EIER) enzim konsantrasyonu, varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test protokolü kullanılarak 1:200 ve 1:500'lik enzim konsantrasyonu/ enzim dilüsyonu oranları ile gerçekleştirildiğinde amplifikasyon durumunda farklılık gözlemlenmemiştir. 1:300'lük varsayılan konsantrasyonda en yüksek kalite oranları gözlemlenmiştir ve bu dilüsyon önerilir.
- Denaturasyon süresi, 5 dakika ve 15 dakika için gerçekleştirildiğinde amplifikasyon durumunda varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test protokolü ile karşılaştırıldığında farklılık gözlemlenmemiştir. 10 dakikalık varsayılan sürede en yüksek kalite oranları gözlemlenmiştir ve bu denaturasyon süresi önerilir.
- Hibridizasyon süresi, 9 saat ve 15 saat için gerçekleştirildiğinde amplifikasyon durumunda varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test protokolü ile karşılaştırıldığında farklılık gözlemlenmemiştir. 12 saatlik varsayılan sürede en yüksek kalite oranları gözlemlenmiştir ve bu hibridizasyon süresi önerilir.
- Hibridizasyon sonrası yıkama süresi 2 dakika, 5 dakika ve 7 dakika için gerçekleştirildiğinde amplifikasyon durumunda varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test protokolü ile karşılaştırıldığında farklılık gözlemlenmemiştir. 4 dakikalık varsayılan sürede en yüksek kalite oranları gözlemlenmiştir ve bu hibridizasyon sonrası yıkama süresi önerilir.
- Leica HER2 FISH System - 30 Test, 28 °C'de ve % 30 bağıl nemde ve 16 °C'de ve % 80 bağıl nemde gerçekleştirildiğinde amplifikasyon durumunda ortam koşullarında gerçekleştirilen varsayılan Leica HER2 FISH System - 30 Test protokolü ile karşılaştırıldığında farklılık gözlemlenmemiştir.

Test edilen test sağlamlığına ait önerilen parametrelerin dışında gerçekleştirilen işlemler doğrulanmamıştır. Başka bir test parametresinin kullanılması, testi geçersiz kılabılır.

Yukarıdaki metin, test edilen koşulları ve çalışma sonuçlarını açıklar. Leica'nın olabilecek tüm koşul kombinasyonlarını test etmediğini ve tüm koşullar için varsayılan dışında aralıkların kullanılmasını önermediğini unutmayın. Varsayılan Leica HER2 FISH Boyama Protokolü'nün ana hatları Tablo 2'de verilmiştir.

## Sorun Giderme

Sorun	Olası Neden	Düzeltilici İşlem
Flüoresan sinyal/ boyama yok veya zayıf	Test numunesinin uygun olmayan fiksasyonu ve işlemi	Formalinle fikse etme tipinin kullanıldığından ve işleme programlarının test edilen numune için uygun olduğundan emin olun.
	Leica HER2 FISH System - 30 Test son kullanma tarihi geçmiştir	Leica HER2 FISH System - 30 Test, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanıldığından emin olun.
	Hatalı protokol seçimi	Add slide iletişim kutusunun boyama protokolü alanında *FISH Protocol A'da uygun varsayılan seçimin olduğundan emin olun.
	Dağıtılan uygun olmayan bulk reagent'leri	Tüm BOND reagent'lerinin, uygun bulk konteynerlerine dağıtılmış olduğundan ve enstrümanda uygun pozisyonlara yerleştirilmiş olduğundan emin olun.
	Lamların uygun olmayan deparafinizasyonu	Add slide iletişim kutusunun hazırlık alanında *Dewax modunun seçili oldüğünden emin olun.
	Uygun olmayan ön tedavi	Varsayılan ön tedavi (HIER ve Enzymatic Digestion) protokollerini seçtiğinizden emin olun. Gerekirse ön tedavi protokolünü (HIER veya Enzymatic Digestion) ayarlayın.
	Uygun olmayan denaturasyon	Uygun varsayılan *D10 denaturasyonunun seçildiğinden emin olun.
	Uygun olmayan hibridizasyon	Uygun varsayılan *H12 hibridizasyonunun seçildiğinden emin olun. Gerekirse hibridizasyon süresini arttırın.
	Aşırı hibridizasyon sonrası yıkama	Hibridizasyon sonrası yıkama inkübasyon süresini azaltın.
	Tamamlanmadan çalıştırmanın durdurulması	BOND yazılımını kullanarak boyama çalıştırması sırasında raporlanabilir herhangi bir hata olup olmadığını kontrol edin ve BOND yazılımı tarafından belirtildiği gibi bildirin.
	Uygun olmayan flüorasan mikroskopi ekipmanı • Uygun olmayan filtre seti • Hatalı lamba • Geçmiş lamba • Hatalı yağ tipi	Kullanılan tüm flüorasan mikroskopi ekipmanlarının, gerçekleştirilen test için uygun olduğundan emin olun ve aşağıdakileri doğruların: • Uygun filtre seti • Uygun lamba • İyi lamba şiddeti • Yağlı mikroskopide kullanım için uygun yağ
	UV ışığına aşırı ekspozür (florişildama bozulması)	Flüoresan sinyallerini muhafaza etmek için lamları değerlendirmeden sonra karanlıkta saklayın. Uzun süre saklama için sinyali muhafaza etmek amacıyla lamları -20 °C'de saklayın.

Sorun	Olası Neden	Düzeltilici İem
Nonspesifik arka plan flüoresan sinyali/boyama	Uygun olmayan hibridizasyon sonrası yıkama	Hibridizasyon sonrası yıkama inkübasyon süresini artırın.
	Dağıtılan uygun olmayan bulk reagent'leri	Tüm BOND reagent'lerinin, uygun bulk konteynerlerine dağıtılmış olduğundan ve enstrümanda uygun pozisyonlara yerleştirilmiş olduğundan emin olun.
	Lamların uygun olmayan deparafinizasyonu	Add slide iletişim kutusunun hazırlık alanında Dewax modunun seçili olduğundan emin olun.
	Nekroz doku alanları ile nonspesifik çapraz reaksiyon	Formalinle fikse etme tipinin kullanıldığından ve işleme programlarının test edilen numune için uygun olduğundan emin olun. Mümkünse başka bir blok kullanarak vakayı tekrar test edin. Bu mümkün değilse boyanan ilgili H&E seksiyonuna göre en iyi fikse etme paternlerini gösteren alanları değerlendirin ve seçin.
	Seksiyonlar, lamlara alternatif yapışkanlar kullanılarak yapıştırılmış	(BOND Plus Slides – ürün kodu S21.2113 veya Apex BOND Slides - ürün kodu 3800040) kullanın.
Doku morfolojisinin az muhafazaedilmesi	Uygun olmayan doku fiksasyonu ve işlemesi	Formalinle fikse etme tipinin kullanıldığından ve işleme programlarının test edilen numune için uygun olduğundan emin olun. Mümkünse başka bir blok kullanarak vakayı tekrar test edin. Bu mümkün değilse boyanan ilgili H&E seksiyonuna göre en iyi fikse etme paternlerini gösteren alanları değerlendirin ve seçin.
	Uygun olmayan ön tedavi	Ön tedavi protokolünü (HIER veya Enzymatic Digestion) ayarlayın.
Hasta/kontrol lam(lar)ından kopan doku	Hatalı tipte lam kullanılması veya uygun olmayan seksiyon boşaltması	Hasta/kontrol seksiyonları için uygun lamların kullanıldığından emin olun (örn. BOND Plus Slides – ürün kodu S21.2113 veya Apex BOND Slides - ürün kodu 3800040). Lamlarda uygun boşaltma yapıldığından ve lamların 1 saat boyunca 60 °C'de inkübe edildiğinden emin olun.

Tablo 7: Leica HER2 FISH System - 30 Test Arıza Giderme Kılavuzu

Leica HER2 FISH System - 30 Test ile ilgili herhangi bir sorunun, arıza giderme kılavuzunun kapsamı dışında kalması halinde destek için yerel Leica Biosystems Teknik Servis Departmanı'nız veya Distribütör ile irtibata geçin.

## Referanslar

- 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 protein 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, Kuriu 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.
- 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.



## Lisans Sözleşmesi

Bu ürün, Abbott Molecular Inc. tarafından sağlanan PathVysion FISH problemlerini içerir. PathVysion, LSI ve CEP, Abbott Molecular Inc.'in bir ticari markasıdır. Tüm Hakları Saklıdır. Lisanslı olarak kullanılır.









## Önceki baskıya göre değişiklikler

Sağlanan Bileşenler, Sembol Tanımlaması.

## Yayın tarihi

28 Eylül 2020

## Sembol Tanıma

	Seri Kodu		<b>Saklama</b>		Katalog numarası
	In vitro diagnostik medikal cihaz		<b>Üretici</b>	<b>SN</b>	Seri Numarası
	eIFU - kullanım talimatlarına başvuru		<b>&lt;n&gt; test için yeterli içerik</b>		YYYY-AA-GG tarihinde kullanım
<b>Rx Only</b>	Sadece reçete				

Herceptin, Genentech, Inc. ve F. Hoffmann-La Roche Ltd.'nin bir ticari markasıdır.