

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail

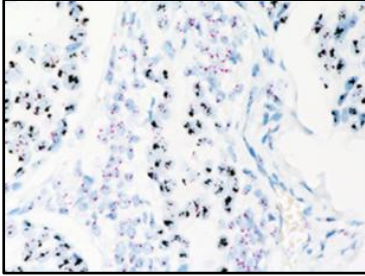
REF

800-6043

08314373001

IVD

Σ 30



Şekil 1. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ile amplifiye HER2 durumu, Meme Karsinomu.

KULLANIM AMACI

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, ışık mikroskobu kullanılarak HER2 geninin Chromosome 17'ye oranının sayısal olarak belirlenmesi üzerinden HER2 geni durumunun tayinine yöneliktir. HER2 ve Chromosome 17 problemleri, BenchMark IHC/ISH cihazlarında boyama sonrasında, gastroözofageal bileşke de dahil olmak üzere, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü insan meme ve gastrik karsinom doku numunelerinde iki renkli kromojenik in situ hibridizasyon (ISH) kullanılarak tespit edilir.

ağü hastaların değerlendirilmesinde yardımcı olarak endikedir. Bu ürün, kalifiye bir patolog tarafından histolojik inceleme, ilgili klinik bilgiler ve doğru kontrollerle birlikte yorumlanmalıdır.

Bu ürün, in vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve sağkalımına aracılık eden transmembran reseptör tirozin kinaz epidermal büyüme faktörü alt ailesinin bir üyesidir.^{1,2} Meme karsinomlarının yaklaşık yüzde 15 ila 30'u HER2 proteini aşırı ekspresyonu, HER2 geni amplifikasyonu (*ERBB2*) veya her ikisini sergilemektedir.^{3,4} İnvaziv meme karsinomunda HER2 geni ve/veya protein durumunun bilinmesi, klinisyenlerin söz konusu hastalar için genel sağlık hizmeti yönetimini iyileştirmek üzere daha bilgilili kararlar almasını mümkün kılmaktadır.⁵ HER2 durumu, meme kanseri hastalarında HER2 hedefli tedaviye verilen yanıtla ilişkin belirlenmiş bir prediktif faktördür.^{5,6,7}

Trastuzumab (Herceptin), HER2 ekstraselüler alanına karşı bir hümanize monoklonal antikor olup HER2 pozitif meme kanseri olan hastalara fayda sağladığı gösterilmiştir.⁸⁻¹³ HER2 gen amplifikasyonunun ve/veya protein aşırı ekspresyonunun gösterilmesi, trastuzumab tedavisine uygun hastaların seçilmesinde son derece önemlidir.^{5,14} Benzer şekilde, HER2 gen amplifikasyonu veya protein aşırı ekspresyonu, gastrik ve gastroözofageal bileşke adenokarsinomunda (toplu olarak gastroözofageal adenokarsinom veya GEA olarak adlandırılır) meydana gelir.^{15,16,17} Yayınlanmış çalışmalarda geniş bir HER2 aşırı ekspresyon sıklığı aralığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, 3,803 GEA hastasının yer aldığı en büyük tarama veri setlerinden birinde, hastaların yüzde 22'sinin HER2 protein ekspresyonu veya gen amplifikasyonu bakımından pozitif test sonucu verdiği raporlanmıştır.¹⁸ Çalışmaların çoğunluğu, HER2 hedefli tedavi yokluğunda, HER2 aşırı ekspresyonunun olumsuz bir prognostik faktör olduğunu ileri sürmektedir.¹⁹ HER2 hedefli trastuzumab tedavisi, invaziv meme karsinomunun yönetiminde tedavi temellerinden biridir ve reseptörü aşırı eksprese eden mide/GEA kanseri hastalarının yönetiminde terapötik değere sahiptir.^{15,17} HER2 gen amplifikasyonunun ve/veya protein aşırı ekspresyonunun gösterilmesi, trastuzumab tedavisine uygun hastaların seçilmesinde son derece önemlidir.^{15,19} Klinik çalışmalar, yüksek HER2 protein aşırı ekspresyonu ve/veya gen amplifikasyonu olan meme veya mide/GEA kanseri hastalarının trastuzumab ile tedaviden en çok fayda sağlayan hastalar olduğunu göstermiştir.^{3,15}

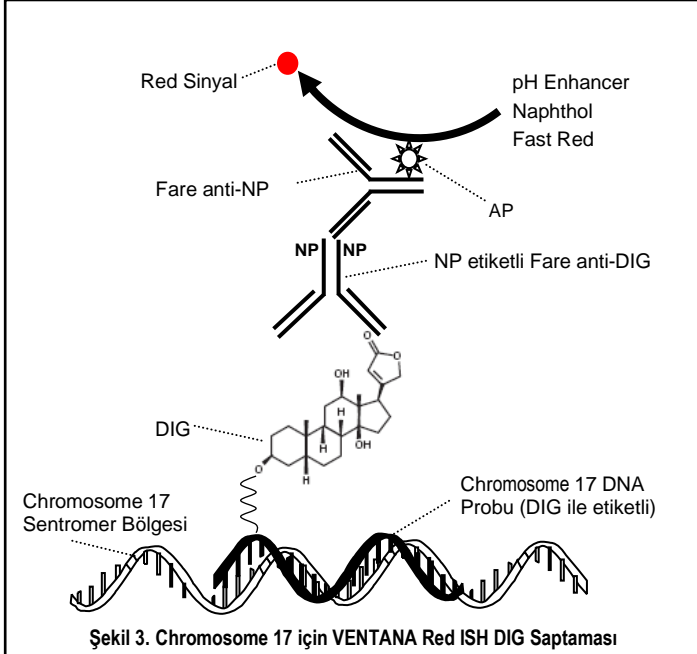
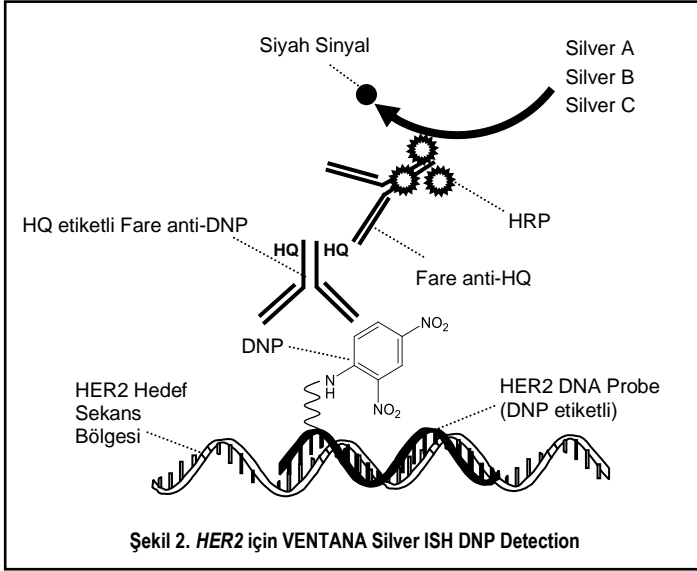
PROSEDÜR PRENSİBİ

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, formamid bazlı tamponda formüle edilmiş HER2 problemleri (haptent dinitrofenil veya DNP ile etiketli) ve Chromosome 17 problemleri (haptent digoksisijenin veya DIG ile etiketli) içerir. Problar, invaziv meme karsinomu ve GEA'da HER2 geninin amplifikasyonunu tespit etmek üzere tasarlanmıştır. HER2 DNA Probe özellikle insan Chromosome 17 (17q12) üzerinde bulunan HER2 genini (aynı zamanda ERBB2 ve NEU olarak da bilinir) hedef alan bir oligo prob karışımıdır. Kromozom 17 probu sentromer bölgesindeki sekansları hedef alan ve anösmi için referans olarak görev gören bir oligo prob karışımıdır. Her iki probun kopya sayıları tümör çekirdeklerinde sayılır ve sonuçlar HER2 amplifikasyon durumunu belirlemek için bir HER2/Chromosome 17 oranı olarak raporlanır (≥ 2.0 olan bir HER2/Chromosome 17 oranı amplifiye iken < 2.0 olan bir oran amplifiye değildir). VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit, VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ve bir BenchMark IHC/ISH cihazı üzerinde yardımcı reaktiflerle birlikte kullanılmak üzere en iyi şekilde tasarlanmıştır.

Saptama kiti bir primer antikor ve kromojenik enzim olarak kullanılan yaban turpu peroksidazı (HRP) veya alkalin fosfataz (AP) ile konjuge olan bir enzim etiketli ikincil antikor içerir. Dual in situ hibridizasyon (Dual ISH) boyama süreci esnasında DNP ve DIG etiketli problemler hücre çekirdekleri içerisinde ilgili spesifik hedef DNA sekanslarına ortak olarak hibridize edilirler. Aşağıdaki dağıtıcıları içeren VENTANA Silver ISH (SISH) DNP Detection Kit kullanımıyla ilk olarak DNP etiketli HER2 probunun saptanması gerçekleşir: hidrokisinkoksalin (HQ) etiketli fare anti-DNP ana antikor, yaban turpu peroksidazına (HRP) konjuge fare anti-HQ ikincil antikor, Chromogen A (Silver A), Chromogen B (Silver B) ve Chromogen C (Silver C). HQ etiketli fare anti-DNP primer antikor ve ardından fare anti-HQ HRP ikincil antikor konjugatı ile inkübasyonu takiben SISH reaksiyonu meydana gelir. Kısaca açıklanması gerekirse bu reaksiyon Kromojenler A (gümüş asetat), B (hidrokinon) ve C (H_2O_2) ürünlerinin sıralı şekilde eklenmesiyle etkinleşir. Burada gümüş iyonları (Ag^+) hidrokinon tarafından metalik gümüş atomlarına (Ag^0) indirgenir. Bu reaksiyon, HRP substratı hidrojen peroksitten (Chromogen C) güç alır. Gümüş çökeltisi çekirdeklere oluşur ve HER2 geninin tek bir kopyası siyah bir nokta olarak görselleştirilir. Şekil 2'de SISH reaksiyonu gösterilmektedir.

HER2 için SISH saptamasını takiben VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ile DIG etiketli Chromosome 17 probu saptanır. Bu kit şu dağıtıcıları içerir: nitropirazol (NP) etiketli fare anti-DIG ana antikor, Alkalin Fosfataza (AP) konjuge fare anti-NP ikincil antikor, pH Enhancer, Naphthol ve Fast Red. SISH sinyalinin gelişimini takiben slayt, Kromozom 17 probunda DIG haptenine bağlanan NP etiketli fare anti-DIG primer antikor ile inkübe edilir. Anti-haptent primer antikor, AP enzimine konjuge olan fare anti-NP ile saptanır. Slayt, optimum AP enzim performansı için uygun tuz bileşenleri ve konsantrasyonları ve tamponlanmış pH sağlayan pH Enhancer çözeltisiyle inkübe edilir. Ardından, AP enzimi için substrat görevi gören naftol fosfat uygulanır (AP, naftolu defosforile eder). Ardından slayda eklenen Fast Red, defosforile edilen naftol ile birleşerek, ışık mikroskobuyla kolayca görselleştirilebilen kırmızı bir çökelti oluşturur. Şekil 3'te Red ISH reaksiyonu gösterilmektedir. Ardından numunede, ışık mikroskobuyla yorumlama için Hematoxylin II kullanılarak karşıt boyama yapılır.

Boyama protokolü, reaktiflerin belirli sıcaklıklarda önceden belirlenmiş sürelerle inkübe edildiği çeşitli adımlardan oluşur. Her bir inkübasyon adımının sonunda BenchMark IHC/ISH cihazı bağlanmayan materyali gidermek için kesitleri yıkar ve slayttan aköz reaktiflerin buharlaşmasını en aza indiren sıvı bir lamel uygular. Sonuçlar 20x, 40x ve/veya 60x objektifler kullanılarak bir ışık mikroskobuyla yorumlanır.



ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN MALZEME

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail dağıtıcısı 30 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 6 mL'lik VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail dağıtıcısı, formamid bazlı bir hibridizasyon tamponu içerisinde formüle edilmiş halde yaklaşık 14 µg/mL dinitrofenil (DNP) etiketli HER2 probu ve 0.24 µg/mL digoksigenin (DIG) etiketli Chromosome 17 probu içerir. Her iki prob da HER2 gen durumunu (yani HER2/Chromosome 17 oranı) belirlemek için kullanılır.

Aşağıdaki konular hakkında ayrıntılı bilgi için ilgili VENTANA saptama kitinin yöntem tablolarına bakın: Prosedür Prensipleri, Materyaller ve Metotlar, Numune Toplama ve Analiz için Hazırlama, Kalite Kontrol Prosedürleri, Sorun Giderme, Sonuçların Yorumlanması ve Kısıtlamalar.

GEREKLİ OLAN FAKAT ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMİYEN MALZEMELER

VENTANA saptama kitleri ve yardımcı bileşenler gibi boyama reaktifleri ürünle birlikte verilmez.

Yöntem tablosunda listelenen ürünlerin hepsi tüm bölgelerde mevcut olmayabilir. Yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

Aşağıda yer alan ve boyama için gerekli olan reaktifler ve malzemeler ürünle birlikte verilmez:

1. VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit (Kat. No. 760-516 / 08318883001)
2. VENTANA Red ISH DIG Detection Kit (Kat. No. 760-512 / 08318832001)
3. HybReady Solution (Kat. No. 780-4409 / 05917557001)
4. ISH Protease 3 (Kat. No. 780-4149 / 05273331001)
5. Hematoxylin II (Kat. No. 790-2208 / 05277965001)
6. Bluing Reagent (Kat. No. 760-2037 / 05266769001)
7. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Kat. No. 950-300 / 05353955001)
8. SSC (10X) (Kat. No. 950-110 / 05353947001)
9. EZ Prep Concentrate (10X) (Kat. No. 950-102 / 05279771001)
10. *ultraView* Silver Wash II (Pre-dilute) (Kat. No. 780-003 / 05446724001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (Kat. No. 950-124 / 05279801001)
12. Cell Conditioning Solution (CC2) (Kat. No. 950-123 / 05279798001)
13. LCS (Predilute) (Kat. No. 650-010 / 05264839001)
14. ULTRA LCS (Pre-dilute) (Kat. No. 650-210 / 05424534001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Kat. No. 950-224 / 05424569001)
16. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (Kat. No. 950-223 / 05424542001)
17. BenchMark IHC/ISH cihazı
18. Mikroskop slaytları, pozitif yüklü (Superfrost Plus veya muadili)
19. Kalıcı sabitleme ortamı*
20. Dokuyu kaplamak için yeterli lamel
21. Otomatik lamel yerleştirici
22. HER2 Dual ISH 3-in-1 Xenograft Slides (Kat. No. 783-4422 / 05640300001) gerekmesi halinde sorun giderme faaliyetleri için kullanılabilir.

* Bu tayin ile uyumlu sabitleme ortamı için bkz. Tablo 30.

SAKLAMA VE STABİLİTE

Alındıktan sonra ve kullanmadığınız zamanlarda 2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın.

Reaktifin uygun bir şekilde uygulandığından ve prob stabilitesinden emin olmak için dağıtıcı kapağını her kullanımdan sonra yerine takın ve dağıtıcıyı derhal soğutucuya dikey konumda yerleştirin.

Her prob dağıtıcısının bir son kullanma tarihi vardır. Düzgün bir şekilde saklanması halinde, reaktif etikette belirtilen tarihe kadar stabil kalır. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

NUMUNE HAZIRLAMA

Rutin olarak işlenmiş, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü (FFPE) dokular, bir BenchMark IHC/ISH cihazı ile birlikte kullanıldığında bu proba kullanım için uygundur. Önerilen doku sabitleyici, 6 ila 72 saat boyunca uygulanan %10 nötr tamponlu formalindir (NBF).²⁰ VENTANA tayinlerinden ayrı olarak, çalışmalar FISH aracılığıyla kesin olmayan HER2 geni sonuçlarının çoğunluğunun gereğinden az ve fazla fiksasyonun²¹ yanı sıra gecikmeli fiksasyon dahil olmak üzere analiz öncesi faktörlerle ilişkili olduğunu tespit etmiştir.²² Fiksasyon prosedürlerinin katı bir şekilde uygulanması (örn. özel bir işleyicinin en az 6 saat fiksasyon sağlaması) %68.5'lik bir düşüşle, kesin olmayan vakalarda başarısızlığın %10.8'den %3.4'e inmesiyle sonuçlanmıştır. < 6 saat formalinde sabitlenen numuneler, soluk/zayıf hematoksilin boyama ile gözlemlendiği üzere sinyal kaybına ve nükleer aşırı sindirime neden olabilir. Bazı sabitleyiciler (Bouin's sabitleyicisi ve Alkol Formalin-Asetik Asit (AFA) dahil) ISH bazlı tayinlerde değişken boyama ürettiği için yalnızca %10 NBF'de fiksasyon tavsiye edilir.²¹

Kesilen doku kesitlerinde nükleik asit hedeflerinin kalitesi zaman içinde azalabileceği için slaytlar derhal boyanmalıdır. Kurum içi çalışmalar 2–8 °C'de saklanan meme ve gastrik kesim slaytlarının 12 ay boyunca stabil olabildiğini göstermiştir. Pozitif olarak yüklenmiş slaytlar çevresel streslerden etkilenecek ISH tayinlerinin yanlış boyanmasına (örneğin dokuda boyama veya karşıt boya yokluğu) neden olabilir. Bu tip slaytların nasıl kullanılacağını daha iyi anlamak için Roche temsilcinizden "Impact of environmental stress on various histology slide types" belgesinin bir kopyasını isteyin.

Her bir kesit kullanılan tayin için uygun kalınlıkta (4 µm) kesilmeli ve pozitif yüklü mikroskop slaytlarına (Superfrost Plus veya muadili) yerleştirilmelidir. Slayt ile doku arasındaki fazla suyu gidermek için slaytlar drene edilmeli veya kurutulmalıdır.

4 µm'den daha kalın kesitler, önerilen koşullardan daha güçlü proteaz işlemesi gerektirebilir ve dokudaki fazla parafin nedeniyle ince kesitlere göre daha fazla nükleer kabarcıklanma sergileyebilir. Nükleer kabarcıklanma, çekirdeklerdeki büyük veya küçük kabarcıklar veya boşluklar olarak görünür. Nükleer kabarcıklanma gerçekleştiğinde sıklıkla SISH ve Red ISH sinyalleri üzerinde 1) SISH ve Red ISH sinyallerinin genel olarak hala çekirdekte merkezi olarak bulunduğu nükleer kabarcıklı çekirdekler ve 2) SISH ve Red ISH sinyallerini periferiye iten nükleer kabarcıklı çekirdekler ile karakterize edilen bir etki spektrumu mevcut olur. Genellikle her iki durumda da, SISH ve Red ISH sinyalleri açıkça ayırt edilebiliyorsa, başka bir şekilde bozulmamış ve hala sayılabilir durumda vaka puanlanabilir. Bununla beraber zaman zaman şiddetli nükleer kabarcıklanma SISH ve Red ISH sinyallerini doğru sayım mümkün olmayacak şekilde bozabilir veya ayırt edilemez hale getirebilir. Bu durum SISH ve Red ISH sinyalleri nükleer periferiye itildiğinde daha sık gerçekleşir. Bu gerçekleştiğinde çoğunlukla örneğin başka bir yerinde sayılabilir çekirdekler bulunabilir ve vaka puanlanabilir. Nükleer kabarcıklanmanın SISH ve Red ISH sinyallerinin güvenilir bir şekilde sayılabileceği yeterli miktarda çekirdek bulunamayacak derecede şiddetli olması durumunda vaka puanlanmamalıdır. Nükleer kabarcıklanma aynı zamanda yetersiz fiksasyon (formalinle 1-3 saat) bağlamında da gerçekleşebilir, bu durumda daha belirsiz bir nükleer kabarcıklanma olur. 3 saatlik fiksasyonda bu durum değiştirilmiş hücre iyileştirme/proteaz işlemi ile çözülebilir ancak 1 saatlik fiksasyon muhtemelen çözülemeyecek haldedir.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini, tayinin farklı laboratuvarlarda optimize edilmesine ve belirli dokularda/optimumun altında boyama sergileyen slaytlarda takip eden sorun gidermeye yardımcı olabilecek ek işlem öncesi seçeneklerle birlikte geliştirilmiştir. Her laboratuvarın, test edilecek klinik örneklerle aynı koşullar altında hazırlanmış temsilî kontrol örnekleri üzerinde ilk işlemleri gerçekleştirmesi önerilir. Bu, kesin numune hazırlama prosedürlerinde farklılık gösterebilecek bireysel laboratuvarlar için özel boyama koşullarının optimize edilmesine yardımcı olacaktır. Tavsiye edilenlerden farklı analiz öncesi faktörlerde değişken sonuçlar meydana gelebilir. Tavsiye edilmeyen koşullar kullanılarak analiz öncesi hazırlığı yapılan numuneler tayinde hiçbir zaman uygun şekilde boyanmayabilir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. İn vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.
2. Sadece profesyonel kullanım içindir.
3. Belirtilen test sayısının üzerinde kullanmayın.
4. **Uyarı, Ürün Formamid İçerir.** Formamid solunum yoluyla toksik, yutma yoluyla ise orta derecede toksiktir. Cilt, gözler ve mukoz membranlar için tahriş edici olup cilt tarafından emilir. Doğmamış çocuklar için zararlı olabilir. Reaktifleri kullanırken önlemler alın. Kuşkuyla kullanılan karsinojenleri veya toksik maddeleri kullanırken tek kullanımlık eldivenlerden yararlanın ve uygun koruyucu kıyafetler giyin.
5. İnsan veya hayvan kaynaklı materyaller, potansiyel açıdan biyotehlikeli oldukları varsayılarak kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak atılmalıdır. Maruz kalma durumunda, sorumlu otoritelerin sağlık direktifleri izlenmelidir.^{23,24}
6. Reaktiflerin göz ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Reaktifler hassas bölgelerle temas ederse bu bölgeleri bol suyla yıkayın. Reaktiflerin solunmasından kaçının.
7. Cihazda bir işlem başlatmadan önce atık kabının boş olduğundan emin olun. Bu önlemin alınmaması durumunda atık kabı taşabilir ve kullanıcı kayıp düşme riski altında olur.
8. Yanlış sonuçlar üretebileceği için reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının.
9. Bu cihazın kullanımı hakkında daha fazla bilgi için BenchMark IHC/ISH cihazı Kullanıcı Kılavuzuna ve tüm gerekli bileşenlerin navifyportal.roche.com adresinde bulunan kullanım talimatlarına bakın.
10. Önerilen imha yöntemine karar vermek için yerel ve/veya resmi kurumlara danışın.
11. Ürün güvenliği etiketi, öncelikli olarak EU GHS yönergelerini izler. Güvenlik bilgi formu profesyonel kullanıcı için talep üzerine temin edilir.
12. Bu cihazla ilgili şüphelenilen ciddi olayları raporlamak için yerel Roche temsilcisi ve kullanıcının bulunduğu Üye Devlet veya Ülkenin yetkili makamıyla iletişime geçin.

Bu ürün, Düzenleme (EC) No. 1272/2008 uyarınca aşağıdaki şekilde sınıflandırılan bileşenler içermektedir:

Tablo 1. Tehlike bilgileri.

Tehlike	Kod	Beyan
	H351	Kansere yol açtığından şüphelenilmektedir.
	H360D	Doğmamış çocuğa zarar verebilir.
	H373	Uzun süreli ve yinelenen maruz kalma sonucunda organlarda hasara neden olabilir.
	P201	Kullanımdan önce özel talimatları edinin.
	P202	Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılana kadar kullanmayın.
	P260	Sis veya buharları solumayın.
	P280	Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/koruyucu gözlük/yüz koruması/işitme koruması kullanın.
	P308 + P313	Maruz kalmışsanız veya endişe duyarsanız: Tıbbi tavsiye/yardım alın.
	P501	İçeriği/kabı uygun bir atık imha tesisine atın.

Bu ürün CAS No. 75-12-7 içerir: formamid

BOYAMA PROSEDÜRÜ

VENTANA problemleri, VENTANA saptama kitleri ve aksesuarlarıyla birlikte bir BenchMark IHC/ISH cihazı üzerinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ile BenchMark IHC/ISH cihazı için boyama prosedürleri Tablo 2 içerisinde listelenmiştir. Tavsiye edilen boyama protokolleri Tablo 3 içerisinde listelenmiştir.

Otomatik prosedürlere ilişkin parametreler, cihazın Kullanıcı Kılavuzundaki prosedüre göre görüntülenebilir, yazdırılabilir ve düzenlenebilir. Daha ayrıntılı bilgi için ilgili VENTANA saptama kitinin yöntem tablosuna bakın

Bu cihazın uygun kullanımına ilişkin ayrıntılar için P/N 800-6043 ile ilişkili olan iç hat dağıtıcı yöntem tablosuna bakın.

Tablo 2. BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayinini gerçekleştirmek için aşağıdaki boyama prosedürlerini kullanın.

Cihaz Platformu	Boyama Prosedürü
BenchMark GX	GX VENTANA HER2 DISH DNA PRB CKT
BenchMark XT	XT VENTANA HER2 DISH DNA PRB CKT
BenchMark ULTRA veya BenchMark ULTRA PLUS	U VENTANA HER2 DISH DNA PRB CKT

Tablo 3. BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini için önerilen boyama koşulları.

Boyama Koşulu	Meme	Gastrik
Fırınlama	Seçili değil	Seçili değil
Cell Conditioning 1	16 dakika	16 dakika
Cell Conditioning 2	24 dakika	16 dakika
ISH Protease 3	20 dakika	16 dakika
Sıklık Yıkama Sıcaklığı	BenchMark GX/XT cihazları için 76 °C	BenchMark GX/XT cihazları için 76 °C
	BenchMark ULTRA veya ULTRA PLUS cihazları için 74 °C	BenchMark ULTRA veya ULTRA PLUS cihazları için 74 °C

Genel laboratuvar cihazları ve çevresel koşulların yanı sıra doku fiksasyonu ve işlemindeki değişkenlikler nedeniyle bağımsız numunelere bağlı olarak hücre iyileştirme veya proteaz ön işleme sürelerinin artırılması veya azaltılması gerekebilir.

BenchMark IHC/ISH Cihazlarında İşlem Başlatma

1. Gerçekleştirilecek prob protokolüne karşılık gelen slayt barkod etiketini uygulayın.
2. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayinini, VENTANA Red ISH DIG ve VENTANA Silver ISH DNP Detection Kits ürünlerinin reaktiflerini ve gereken aksesuar reaktiflerini reaktif tepislerine veya döner sisteme yükleyin. Reaktif tepisini/tepsilerini veya döner sistemi cihaz üzerine yerleştirin.
3. Hacimli sıvıları ve atıkları kontrol edin.
4. Reaksiyon tamponu hacimli şişeleri dolu olmalıdır.
5. Atık kabı işlemin başlatılmasından önce boş olmalıdır.
6. Slaytları cihaza yükleyin.
7. Boyama işlemini başlatın.
8. İşlem tamamlandığında slaytları cihazdan çıkarın. Boyanan slaytlarda rezidüel tampon ve sıvı lamel çözeltisi bulunur. Durulama ve dehidrasyon ile devam edin (aşağıya bakın).

Dehidrasyon Prosedürü

Not: Fast Red kromojeni alkol ve asetonda çözünüdür. Boyalı slaytların alkol ve/veya asetonla maruz bırakılması spesifik sinyal kaybıyla sonuçlanabilir.

1. Sıvı lamel çözeltisini gidermek için slaytları hafif bir bulaşık deterjanının 2 sıralı çözeltisinde yıkayın (otomatik bulaşık makineler için tasarlanan deterjanları kullanmayın).
2. Slaytları distile suyla yaklaşık 1 dakika boyunca iyice durulayın. Silkeleyerek fazla suyu gidirin.
3. Slaytları kuruması için bir fırına (45–60 °C) yerleştirin veya ortam sıcaklığında havada kurutun. Fırında kuruma süreleri 10 dakikadan bir saate kadar farklılık gösterir (boyanmış slaytların daha uzun süreliğine kurutulmasının boyama sonuçlarını etkilemediği görülmüştür). Lamel yerleştirmeden önce slaytların tamamen kuru olduğundan emin olun çünkü slaytlar üzerinde kalan su, lamel yerleştirme işlemini olumsuz yönde etkileyebilir ve kabarcık oluşumuna neden olabilir.
4. Slaytları yaklaşık 30 saniyelik süreye ksilen banyosuna aktarın.
5. Sabitleme ortamını slayt üzerine yerleştirin.
6. Slayt üzerine lameli yerleştirin. Bazı sabitleme ortamlarının tayinle uyumlu olmadığını ve kullanılmaması gerektiğini unutmayın (Kısıtlamalar ve Sorun Giderme bölümlerine bakın).

KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ

Pozitif Kontrol Numunesi

Normal *HER2* ve Chromosome 17 sinyalleri (hücre başına 1 ila 2 kopya) dahili pozitif kontroller olarak hareket eder ve örnek içerisinde 20x, 40x ve/veya 60x objektiflerin kullanımıyla görünür olmalıdır. Bununla beraber biyolojik heterojenite nedeniyle hücrelerin tamamı tek gen kopyası sergilemeyecektir. Çeşitli hücrelerde şunlar dahil olmak üzere spesifik nükleer boyama bulunabilir: stromal fibroblastlar, endotelial hücreler, lenfositler ve neoplastik olmayan epitelyal hücreler. Pozitif kontrollerin pozitif boyama gösterememesi bir reaktif veya cihaz probleminde işaret edebilir. Her bir numune bir dahili pozitif kontrole sahip olduğu için (yani normal hücrelerde uygun ISH boyaması) bu, gerçek "pozitif kontrol" olarak hareket eder.

Gerçekleştirilen her boyama prosedürü ile laboratuvara özgü bir pozitif numune kontrolü kullanılabilir. Kontrol numuneleri, hasta numuneleri ile aynı şekilde hazırlanan numuneler olabilir. Bu tür kontroller, numune hazırlığından boyamaya kadar prosedürün tüm adımlarını izlemek için faydalıdır. Test numunelerinden farklı şekilde hazırlanan bir numune kullanımı reaktifler, cihaz ve prosedürler için bir kontrol sağlayacak ancak fiksasyonu ve numune işleme için kontrol sağlayacaktır. Test numunelerinin sonuçları aynı işlemde analiz edilmelidir. Bu gibi kontroller, her bir hasta numunesinde dahili kontrollerin uygun şekilde değerlendirilmesinin yerini almamalıdır.

Ksenogreft Numunesi

Ksenogreft slaytları, VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ile slayt boyama için kullanılan yöntemin ön doğrulaması için yararlı olabilir. Bunlar aynı zamanda klinik örnekler içeren işlemlerde kullanım söz konusu olduğunda sorun giderme için yardımcı olarak da önerilirler. Daha fazla bilgi için ilgili ksenogreft slaytı yöntem tablosuna bakın.

Açıklanamayan Uyuşmazlıklar

Kontrollerde açıklanamayan uyumsuzluklar derhal yerel destek temsilcisine yönlendirilmelidir. Kalite kontrol sonuçlarının spesifikasyonları karşılamaması durumunda hasta sonuçları geçersiz olur. Bu yöntem tablosunun Sorun Giderme kısmına bakın. Sorunu tespit edip düzeltin, ardından hasta örneklerini tekrarlayın.

Tayin Doğrulaması

Diagnostik bir prosedürde bir probun veya boyama sisteminin ilk kullanımından önce, probun spesifitesi, probun bilinen ISH performans özellikleri ile bir dizi doku üzerinde test edilmesi yoluyla doğrulanmalıdır (prob yöntem tablosuna ve College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,²⁵ Kalite Kontrol önerilerine veya CLSI Approved Guideline'a²⁶ ya da her iki belgeye bakın). Bu kalite kontrol prosedürleri her yeni reaktif lotu için veya tayin parametrelerinde her değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır.

BOYAMA YORUMLARI/BEKLENEN SONUÇLAR

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini için selüler boyama modeli nükleerdir.

Anatomik patoloji numunelerinin mikroskopik olarak yorumlanmasında, ISH prosedürlerinde ve tek ve amplifiye *HER2* ve Chromosome 17 (Chr17) kopyalarının (20x, 40x ve/veya 60x objektiflerin kullanımıyla mikroskopik inceleme gerektirir) tanınmasında deneyimli bir patolog sonuçları yorumlamadan önce kontrolleri değerlendirmelidir.

Not: 100x objektif kullanımı tavsiye edilmez. Tasarım doğrulama ve onay testleri esnasında okunan doku slaytlarının tamamı 20x, 40x ve/veya 60x objektiflerle yapılmıştır.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, slayt değerlendirmesi için *Yorumlama Kılavuzu VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail* [P/N 1018386] ile birlikte kullanılmalıdır.

Aşağıdaki bölümlerde slaytların nasıl yorumlanacağı ve puanlanacağı açıklanmaktadır. Tablo 4 içerisinde ayrı sinyallerin nasıl sayılacağı gösterilmektedir.

Tanımlar

1. *HER2* Geni Durumu. *HER2* Geni durumu, invaziv bir meme kansinomu veya GEA vakasında hücre başına *HER2* geni kopya sayısının Chr17 kopya sayısına oranının bir fonksiyonudur. *HER2* geni durumu aşağıdaki kılavuz ilkeler kullanılarak sınıflandırılır:
 - a. *HER2*/Chr17 oranı ≥ 2.0 amplifiyedir
 - b. *HER2*/Chr17 oranı < 2.0 amplifiye değildir
2. Slayt Yeterliliği. Bir VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail slaydının sayım için yeterli kabul edilmesi üç adet kriteri karşılamasını gerektirir, söz konusu kriterleri karşılamaması durumunda slayt sayılamaz ve sonuç yetersiz olur.
 - a. Dahili Pozitif Kontrol. Normal *HER2* ve Chr17 sinyalleri (hücre başına 1 ila 2 kopya) dahili pozitif kontroller olarak hareket eder ve örnek içerisinde görünür olmalıdır. Bu nükleer boyama çeşitli neoplastik olmayan hücrelerde şunlar dahil olmak üzere bulunabilir: stromal fibroblastlar, endotelial hücreler, lenfositler ve neoplastik olmayan epitelyal hücreler.
 - b. Neoplastik hücreler. 20x, 40x ve/veya 60x objektifler kullanıldığında tümörün invaziv yanı sayılabilir bir SISH ve Red ISH sinyalleri sahası sergilemelidir.
 - c. Arka plan. SISH veya Red ISH saptama sistemlerinden kaynaklanan tüm arka plan boyamalarının, spesifik SISH veya Red ISH sinyallerinin sayımına olumsuz etki edip etmediklerinin belirlenmesi açısından değerlendirilmesi gerekir. SISH arka planı genellikle belirli sinyalden ayrırt edilebilen SISH "tozu" olarak görünür. Red arka plan, kırmızı bulanıklık veya nadir durumlarda spesifik sinyale kıyasla yoğunluğu daha belirsiz olan, spesifik olmayan sinyaller şeklinde belirebilir.
3. Sinyal Sayımı İçin Hedef Alanlar. İnvaziv kansinom içerisinde kabul edilebilir bir hedef alan, sayılabilir bir SISH ve Red ISH sinyalleri sahası sergiler. Sinyal sayımı zayıf SISH veya Red ISH sinyali, sıkıştırılmış veya üst üste binen çekirdekler ya da nekroz içeren alanlarda gerçekleştirilmemelidir. Sayım için bir hedef alanın yetersiz bulunması durumunda çoğu zaman aynı slayt üzerinde yeterli olan başka hedef alanlar bulmak mümkündür. Bu, hedef alan içerisinde veya bunun bitişiğinde uygun SISH ve Red ISH boyaması sergileyen normal hücrelerin varlığıyla belirlenebilir.

HER2 ve Chromosome 17 İçin Ek Gözlemler

Diğer gözlemler patolog raporunda yorumlar olarak not edilebilir.

1. Heterojenite: Bazı vakalarda doku, *HER2* kopya sayısı için genetik açıdan heterojen olan kansinom alanları içerebilir (yani amplifiye olan ve olmayan çekirdeklerin bir karışımı veya çeşitli *HER2* kopyaları içeren çekirdeklerin bir karışımı mevcut

- olabilir). Bu durum hedef bölgenin içindeki karsinom hücreleri arasında veya iki farklı hedef bölge arasında gözlemlenebilir.
- Anösomi, bir organizmanın normalden fazla veya az spesifik kromozoma sahip olduğu, yani belirli bir kromozomun (bu durumda Chromosome 17) sayısının diploit olmadığı her koşula verilen addır. Polizomi durumunda, beklenen iki kopya yerine üç veya daha fazla kromozom kopyası bulunabilir. Monozomide tümör hücreleri, yalnızca bir adet Chromosome 17 kopyası sergileyebilir. Chromosome 17'de görünür "amplifikasyon", gruplar veya polizomi (*HER2* SISH grupları ile veya bunlar olmadan) raporlanmıştır.²⁷ *HER2* ve Chromosome 17 grupları olan vakalarda bunların ~ 1.0 oranla değerlendirilmemesine dikkat edilmelidir. Bu vakalarda, çoğunluğun 3+ olma eğiliminde olması nedeniyle, okuyucunun *HER2* protein aşırı ekspresyon analizleri için immünohistokimya (IHC) sonuçlarına başvurması gerekir.
 - Monoallelik Silme: Tümör hücrelerinde Chromosome 17'den *HER2* geninin silinmesi *HER2*/Chr17 oranının < 1.0 olmasıyla sonuçlanır.

Sinyal Görselleştirme

SISH ve Red ISH sinyalleri aşağıdaki şekillerde görselleştirilir:

- Tek Kopya. Kesikli siyah nokta (SISH), tek bir *HER2* kopyası olarak sayılır. Dahili kontrol (neoplastik olmayan) çekirdeklerinde görselleştirilen ayrı tek noktalar SISH (siyah) sinyali için invaziv karsinom hücrelerinde tek bir kopyanın boyutunu temsil eder. Red ISH sinyalleri için her bir ayrı sinyal bir kopya olarak sayılır. Chr17'den Red ISH sinyalinin SISH sinyallerine göre daha büyük ve bazen de şekil olarak uzamış halde görünebileceği unutulmamalıdır. Pembe bir bulanıklık oluşabilir ve sinyalle karıştırılmamalıdır. Dahili pozitif kontrol çekirdeklerindeki sinyale ve genel boyama modeline kıyasla rengi çok açık olan Red sinyaller, spesifik olmayabilecekleri için sayılmamalıdır. Spesifik kırmızı sinyaller Tablo 4'te gösterdiği gibi belirgin kenarlara sahip olurlar.
- Birden Fazla Kopya. Dahili pozitif kontrol çekirdeklerinde görselleştirilen ayrı tek SISH sinyalleri invaziv karsinom hücrelerinde tek bir *HER2* kopyasının boyutunu temsil eder. Tek SISH sinyallerinin boyutu, kanser çekirdeklerinde amplifiye kopyaların bağlı sayısını belirlemek için bir referans olarak kullanılır. Red ISH sinyalleri için her bir ayrı sinyal bir kopya olarak sayılır.
- Gruplar. Çekirdekte sayılmayan çoklu üst üste binen sinyallerin varlığı. Grup, çekirdekte teker teker ayırt edilemeyen çeşitli üst üste binen SISH sinyalleri olarak tanımlanır. *HER2* grupları yalnızca okuyucu tarafından hesaplanabilir. Örnek olarak birden fazla SISH sinyalinden oluşan büyük bir grup 12 kopya olarak hesaplanırken daha küçük gruplar 6 kopya olarak hesaplanabilir. Hesaplama, dahili pozitif kontrol hücrelerinde mevcut olan tek SISH kopyalarının referans olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilir. *HER2* gruplarının varlığı puan sayfasına not edilir.
- Üst üste binen çekirdekler, tek rengin mevcut olduğu çekirdekler ve spesifik olmayan boyama barındıran numuneler sayılmamalıdır. Üst üste binen ve ayırt edilemeyen Red ISH ve SISH sinyallerine sahip tüm çekirdekler iki sinyalin ayırt edilebilmesi için daha yüksek büyütme ile görselleştirilmeli veya sayılmamalıdır. Kabarcıklı görünüm çekirdekler sayılmamalıdır.

HER2 gen statüsünün belirlenmesi için SISH ve Red ISH sinyallerinin numaralandırılması

İnvaziv meme karsinomu veya gastroözofageal karsinom içeren alanları tespit etmek için H&E boyalı slaydını inceleyin. H&E'ye karşılık gelen *HER2* Dual ISH boyalı slaydı inceleyin ve bir invaziv meme karsinomu veya gastroözofageal karsinom hedef alanı tespit edin. *HER2* geni durumunu belirlemek için *HER2* ve Chromosome 17 sinyalleri sayılmadan önce invaziv hedef alanın (lezyonlu doku) yeterli şekilde boyanıp boyanmadığını ve slayt yeterliliği için açıklanan kriterleri karşılayıp karşılamadığını belirlemek kritik öneme sahiptir (bkz. yukarıda yer alan Tanımlar kısmı, 2. Slayt Yeterliliği). Tayin için geliştirilen puanlama algoritması, saymadaki kesinlik ve verimliliği en üst düzeye çıkarır. Her biri kırmızı (Red ISH) ve siyah (SISH) sinyaller içeren yirmi çekirdek sayılmalıdır.

Hücre Seçim Kriterleri



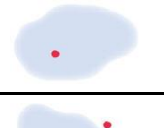
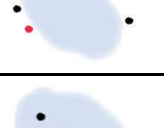
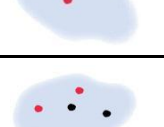
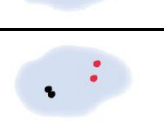





Yalnızca hedef alandaki ortalama invaziv karsinom çekirdekleri popülasyonunu temsil eder nitelikte çaplara sahip çekirdekleri sayın. Aşağıdaki gibi çekirdeklerdeki sinyalleri saymayın:

- Çapı karsinom çekirdeklerinin ortalama boyutundan çok daha büyük olanlar
 - Çapı karsinom çekirdeklerinin ortalama boyutundan çok daha küçük olanlar
- Yalnızca en yüksek ortalama sinyal sayısına (hem SISH hem de Red ISH) sahip invaziv karsinom çekirdekleri popülasyonunu temsil eder nitelikte çekirdekleri sayın.

HER2 kopya sayısına yönelik olarak genetik açıdan heterojen olan hedef alanlarda, yalnızca en yüksek ortalama sinyal sayısına (hem SISH hem de Red ISH) sahip invaziv

karsinom çekirdekleri popülasyonunu temsil eder nitelikte çekirdekleri sayın. Puan sayfasında heterojenitenin mevcut olduğunu unutmayın.

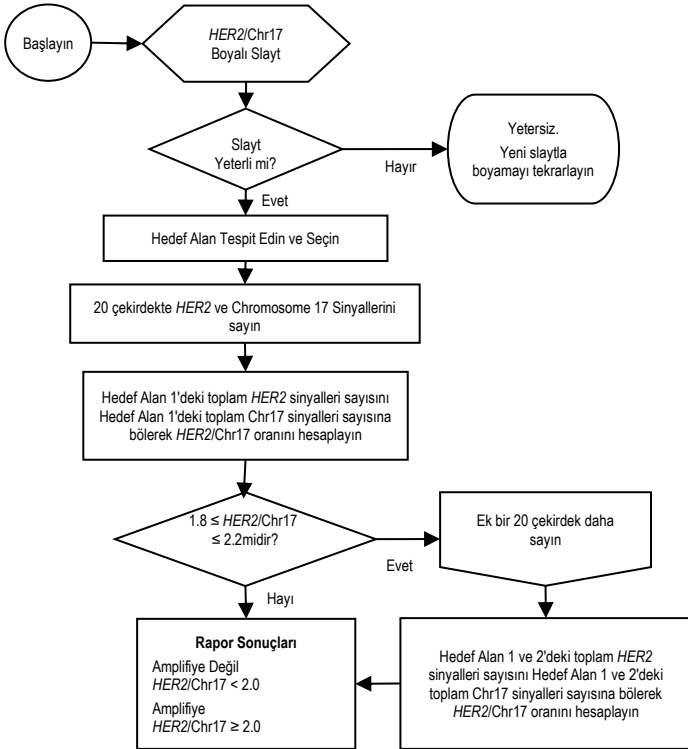
Tablo 4. Sinyal Görselleştirme.

	Çekirdekler üst üste biniyorsa saymayın.
	Hiçbir sinyal mevcut değilse saymayın.
	Yalnızca tek bir rengin sinyali mevcutsa saymayın.
	Sinyaller çekirdeklerin dışındaysa saymayın.
	1 siyah (<i>HER2</i>) ve 1 kırmızı (Chr17) sinyal olarak sayın.
	2 siyah (<i>HER2</i>) ve 2 kırmızı (Chr17) sinyal olarak sayın.
	1 siyah (<i>HER2</i>) ve 2 kırmızı (Chr17) sinyal olarak sayın. Siyah sinyal "çiftlidir". Aynı renkte iki bitişik sinyali yalnızca sinyaller arasındaki mesafe tek bir sinyalin çapına eşit veya bundan büyükse sayın.
	Küçük SISH grupları yalnızca tek bir sinyalin boyutunun referans olarak kullanılmasıyla hesaplanabilir. Sinyal boyutunu hesaplamak için stromal hücrelerden yarırların (daha küçük hücre). Örneğin bu grup 6 SISH sinyali olarak hesaplanabilir, diğer 2 tek sinyalin eklenmesiyle toplam sayı 8 olur. 2 kırmızı sinyal olarak sayın. Puanlama sayfasında <i>HER2</i> için gruplar mevcut olduğunu not edin.
	Büyük grubu hesaplayın. Burada grup 12 siyah sinyal olarak hesaplanabilir, diğer 4 tek sinyalin eklenmesiyle toplam sayı 16 olur. Kırmızı sinyalleri 2 adet Chr17 kopyası olarak sayın. Puanlama sayfasında <i>HER2</i> için gruplar mevcut olduğunu not edin.
	Siyah bir sinyale yakın olan kırmızı bir sinyal, bir adet kırmızı sinyal ve bir adet siyah sinyal olarak sayılmalıdır. Bu durum ayırt etme için 60x objektifle sayım gerektirebilir. Dolayısıyla, 4 siyah (<i>HER2</i>) ve 2 kırmızı (Chr17) sinyal olarak sayın. Üst üste binen sinyallerin ayırt edilememesi durumunda söz konusu çekirdeği saymayın.
	Kırmızı sinyalleri gizleyen siyah noktalar grubu. Kırmızı sinyallerin varlığını veya yokluğunu teyit etmek için daha yüksek büyütmeden (60x) yararlanılabilir; aksi takdirde saymayın: daima net kırmızı sinyallere sahip çekirdekleri sayın. Puan sayfasına SISH gruplarının varlığını not edin. Görünür ve daha yüksek sayılarda kırmızı sinyale sahip çekirdekler, SISH gruplarına sahip çekirdeklerde puanlanmalıdır.

	Çekirdeklere arka plan SISH "tozu" oluşması durumunda yalnızca spesifik SISH sinyalleri arka plandan net bir şekilde ayırt edilebiliyorsa sayın.
	Pembe bir bulanıklık gözlemlenebilir ve sinyalle karıştırılmamalıdır. Ufak, soluk Red ISH sinyalleri görülebilir ve Chr17 probunun diğer kromozomlara spesifik olmayan bağlanmasını temsil edebilir. Görüntü, 2 ayrı kırmızı (Chr17) sinyal ve 2 siyah (HER2) sinyal göstermektedir.

HER2 Geni Durumu: VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail İçin Puanlama Algoritması

Yirmi çekirdek (her biri kırmızı (Chr17) ve siyah (HER2) sinyaller içerir) sayılmalıdır. HER2 durumu için nihai sonuçlar 20 çekirdeğin tamamı için HER2 sinyallerinin toplamının 20 çekirdeğin tamamı için Chromosome 17 sinyallerinin toplamına bölünmesiyle elde edilen orana dayalı olarak raporlanır. Amplifikasyon durumu HER2/Chr17 oranının ≥ 2.0 olması durumunda Amplifiye, HER2/Chr17 oranının < 2.0 olması durumunda ise Amplifiye Değil olarak tanımlanır. HER2/Chr17 oranının 1.8 ile 2.2 arasında olması durumunda ek bir 20 çekirdek daha sayılmalıdır. Ardından 40 çekirdeğin tamamına dayalı olarak yeni bir oran elde edilmeli ve amplifikasyon durumu halihazırda açıklanan şekilde raporlanmalıdır.



Kontroller

Hedef alan içerisinde veya buna bitişik bulunan normal hücreler, boyamanın dahili kontrolleri olarak görev görür. Hedef alanın yeterli kabul edilebilmesi için normal hücre çekirdeklerinin en az %50'sinin en az bir SISH sinyali ve en az %50'sinin en az bir Red ISH sinyali içermesi gerekir (SISH ve Red ISH sinyallerinin aynı hücrelerde olması gerekmez). İşlemdaki herhangi bir slaytta, normal hücrelerde yeterli sinyal saptanmaması, ilgili slaydın sayım için yetersiz olduğuna işaret eder. Pozitif kontrol örneklerinin veya ksenograft slaytlarının kullanımı potansiyel cihaz ve/veya reaktif problemleri için sorun gidermede yardım sağlar.

KISITLAMALAR

Genel Kısıtlamalar

- ISH; uygun reaktiflerin seçimi, numune hazırlama, işleme, ISH slaydının hazırlanması ve sonuçların yorumlanması konusunda özel eğitim gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir.
- Doku boyaması, dokunun boyanmadan önceki kullanımı ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit çıkarma veya başka doku ya da sıvılarıyla kontaminasyon, artefaktlara, reaktif hapsolmesine, yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıkların veya doku içindeki yapısal düzensizliklerin bir sonucu olabilir.
- Aşırı veya eksik karşıt boyama, sonuçların uygun şekilde yorumlanmasını engelleyebilir.
- Boyamanın klinik yorumlaması, klinik geçmiş, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında değerlendirilmelidir. Boyalı preparatı hazırlamak için kullanılan reaktifler ve yöntemlere aşina olmak uzman patoloğun sorumluluğundadır. Boyama, sertifikalı ve ruhsatlı bir laboratuvarında, boyalı slaytların incelenmesinden ve kontrollerin yeterliliğini sağlamaktan sorumlu bir patolog gözetiminde gerçekleştirilmelidir.
- VENTANA reaktifleri, verilen talimatlar izlendiğinde kullanım için optimum seyreltmede sağlanır. Önerilen test prosedürlerinden her türlü sapma, beklenen sonuçları geçersiz kılabilir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanmasına ilişkin sorumluluğu kabul etmelidir.
- Numune işlemindeki varyasyonlar nedeniyle ISH proteaz işlemi süresinin artırılması veya azaltılması gerekebilir. Ayrıca, hücre iyileştirmenin artırılması veya azaltılması boyama sonuçlarını etkiler. Bu tür değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, söz konusu koşullar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasından sorumludur.
- Reaktifler, önceden test edilmemiş dokularda beklenmedik reaksiyonlar sergileyebilir. Dokuların biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilmiş doku gruplarında dahi, beklenmeyen reaksiyon görülme olasılığı tamamen elimine edilemez. Belirlenmiş beklenmedik reaksiyon durumunda yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

ÖZEL KISITLAMALAR

- Bu tayin ile bütün sabitleyiciler uyumlu değildir. Önerilen sabitleyici, 6 ila 72 saat süreyle uygulanan %10 NBF'dir.
- VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ~ 4 µm kalınlıkta kesilen doku kesitlerinin boyanması için geliştirilmiştir. 20 4 µm üzeri kalınlığa sahip kesitlerde doku kaybı yaşanabilir.
- Tüm tayinler her cihaz üzerinde kayıtlı olmayabilir. Daha fazla bilgi için lütfen yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.
- Oksidasyon, solma ve/veya SISH sinyalinin kaybolması, çeşitli sabitleme ortamı markalarından kaynaklı olabilir. Sabitleme ortamı uyumluluğu için Tablo 30'a bakın.
- Red ISH sinyalinin kaybolmasını önlemek için boyanmış slaytlar dehidrasyon amacıyla alkol veya aseton banyolarına daldırılmamalıdır. Havada kurutma veya fırında kurutma önerilmez. Boyanmış slaytlar lamel yerleştirmeden önce tamamen kuru olmalıdır.
- Her testte olduğu gibi negatif bir sonuç, spesifik hedefin test edilen hücrelerde veya dokularda bulunmadığı değil, saptanamadığı anlamına gelir.
- Bu prob BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA reaktifleri ile kullanım için optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, söz konusu koşullar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasından sorumludur.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail performansı; analitik ve klinik çalışmalar üzerinden değerlendirilmiştir. Aksi belirtilmedikçe tüm boyamalar BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde Tablo 3 ile belirtilen şekilde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail protokolü kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5 ve Tablo 6'da bu çalışmaların performans verileri özetlenmektedir: Uyum Çalışmaları, Tekrar Edilebilirlik ve Kesinlik, Okuyucu İçi ve Okuyucular Arası Kesinlik, Lotlar Arası Kesinlik, Cihazın Laboratuvarlar Arası Kesinliği, Analitik Hassasiyet ve Spesifite, Tayin Karakterizasyonu ve Stabilitate. Bu çalışmaların bir alt seti aşağıdaki bölümlerde daha ayrıntılı olarak açıklanmaktadır.

Tablo 5. Analitik ve klinik çalışmalarda meme için performans sonuçlarının özeti.

Başarılı	Başarısız	Toplam	Başarısızlık Modları			
			Zayıf/sıfır HER2/Chr17 (dahili kontrol veya hedef hücreler)	Arka Plan Hataları	Doku yok	Diğer
2893	127	3020	113 (%3.74)	5 (%0.17)	6 (%0.20)	3 (%0.10)

Tablo 6. Analitik ve klinik çalışmalarda gastrik için performans sonuçlarının özeti.

Başarılı	Başarısız	Toplam	Başarısızlık Modları			
			Zayıf/sıfır HER2/Chr17 (dahili kontrol veya hedef hücreler)	Arka Plan Hataları	Doku yok	Diğer
1340	17	1357	17 (%1.25)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)

KLİNİK PERFORMANS

PathVysion Tayini ile Uyum Çalışması: BenchMark ULTRA Cihazı Üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve Abbott/Vysis PathVysion HER-2 DNA Probe Kit Karşılaştırması

İnvaziv meme kanserinde *HER2* geni durumunun belirlenmesi için VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin, karşılaştırma cihazı Abbott/Vysis PathVysion HER-2 FISH Kit ile uyumunu değerlendirmek amacıyla çok tesislili bir uyum çalışması gerçekleştirilmiştir. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayin testi için üç merkezi laboratuvar katılmıştır. Daha önce IHC ile elde edilen HER2 protein ekspresyonuna dayalı çalışmaya potansiyel dahil etme için üç klinik katılım tesisinden altı yüz otuz altı insan invaziv meme kanserini vakası sağlanmıştır. Çalışma sponsoru 133 vaka ile destek sağlamıştır. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ve PathVysion HER-2 FISH tayinini yürüten merkezi laboratuvarlar numunelerin değerlendirilmesinde yanlılığın önlenmesi için IHC durumuna ve orijinal vaka tanımlayıcısına körlenmiştir. Ek analizler için merkezi bir laboratuvar, PATHWAY anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (PATHWAY anti-HER2 (4B5) antikor) kullanarak tüm örneklerde IHC boyaması gerçekleştirmiştir. FISH ve VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayin boyama sonuçları her numunede en az 20 çekirdek sayılarak sayılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki gibi raporlanmıştır: *HER2/Chr 17* oranı ≥ 2.0 amplifiye olarak; *HER2/Chr 17* < 2.0 amplifiye değil olarak. FISH ve VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayinlerinin her ikisi tarafından boyanan 678 vaka içerisinde 605 numune her iki tayin tarafından sayılabilir olmuş ve dolayısıyla uyum oranları analizine dahil edilmiştir.

Birincil Sonuçlar

Birincil analiz, meme kanserinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve PathVysion HER-2 FISH tayinleri arasındaki uyumu değerlendirmek üzere pozitif ve negatif uyum yüzdelerinin karşılaştırmasıdır. Her bir tayin için amplifiye ve amplifiye olmayan klinik değerlendirmelere ait veriler, tüm tesislerden verilerle birleştirilerek, pozitif yüzde ve negatif yüzde uyum oranlarıyla birlikte aşağıdaki 2x2'lik tabloda sunulmaktadır; burada PathVysion HER-2 FISH referans tayindir. BenchMark ULTRA cihazı kullanıldığında bu iki tayin yönteminin eş değer performansının gösterilmesine yönelik kabul kriterleri, üç tesisin her birinden veriler bir araya getirildiğinde iki taraflı %95 güven aralığı alt sınırlarının %85 veya daha yüksek olmasını gerektirmiştir. Bu kabul kriterleri karşılanmıştır (Tablo 7). Ek olarak tesise göre pozitif ve negatif uyum oranlarının tamamı %85'ten yüksek olmuştur (Tablo 8).

Tablo 7. Bir insan meme kanserini numune kohortunda VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve Abbott/Vysis PathVysion HER-2 DNA Probe Kit arasındaki uyum.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Sonucu	PathVysion HER-2 FISH Sonucu		
	Amplifiye	Amplifiye Değil	Toplam
Amplifiye	270	12	282
Amplifiye Değil	32	291	323
Toplam	302	303	605
	n/N	% (%95 Puan CI)	
Pozitif Uyum Yüzdesi	270/302	89.4 (85.4, 92.4)	
Negatif Uyum Yüzdesi	291/303	96.0 (93.2, 97.7)	

Tablo 8. İnsan meme kanserini numunelerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve Abbott/Vysis PathVysion HER-2 DNA Probe Kit için tesise göre negatif, pozitif ve genel uyum oranlarının özeti.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve PathVysion HER-2 FISH	Pozitif Uyum Yüzdesi	Negatif Uyum Yüzdesi	Genel Uyum Yüzdesi
Tesis A: n/N (%) (%95 CI)	92/100 (%92.0) (85.0, 95.9)	92/93 (%98.9) (94.2, 99.8)	184/193 (%95.3) (91.4, 97.5)
Tesis B: n/N (%) (%95 CI)	93/103 (%90.3) (83.0, 94.6)	108/119 (%90.8) (84.2, 94.8)	201/222 (%90.5) (86.0, 93.7)
Tesis C: n/N (%) (%95 CI)	85/99 (%85.9) (77.7, 91.4)	91/91 (%100.0) (95.9, 100.0)	176/190 (%92.6) (88.0, 95.6)

Bu veriler insan meme kanserini numunelerinde *HER2* geni durumunun belirlenmesine yönelik olarak VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ve PathVysion HER-2 FISH Kit arasında mükemmel uyuma işaret etmektedir.

İkincil Sonuçlar

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve PathVysion HER-2 FISH Kit ve bunun iki taraflı %95 puan CI değeri arasındaki genel uyum yüzdesi tüm klinik tesislerden verilerin havuzlanmasıyla %92.7 (90.4, 94.5) olmuştur.

İkincil Sonuçlar: HER2 durumu için IHC ve ISH karşılaştırması

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile PathVysion FISH karşılaştırmasının yapıldığı uyum çalışması, aynı zamanda vakaları *HER2* protein seviyeleri bakımından IHC puanlarına dayalı olarak değerlendirmek üzere tasarlanmıştır (bkz. PATHWAY anti-HER2 (4B5) antikor yöntem tablosu [P/N 14427EN], IHC puanlama için). Bu, PATHWAY anti-HER2 (4B5) antikor ile VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini arasındaki uyum oranlarını karşılaştırmak için ikincil bir analizi mümkün kılmıştır. Bu çalışmada 2+/3+ IHC puanları *HER2* aşırı ekspresyonu için pozitif kabul edilmiştir. PathVysion HER-2 FISH tayini ve PATHWAY HER2/neu (4B5) antikor için uyum verileri Tablo 9 içinde gösterilmiştir. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ve PATHWAY HER2/neu (4B5) antikor için uyum verileri Tablo 10 içinde gösterilmiştir.

Tablo 9. BenchMark ULTRA cihazı üzerinde IHC ve FISH Karşılaştırması: Tüm Tesislerden Havuzlanan Veriler.

		PathVysion HER-2 FISH Sonucu		
		Amplifiye	Amplifiye Değil	Toplam
PATHWAY HER2 (4B5) antikor Sonuçları	Pozitif (2+/3+ vakalar)	277	63	340
	Negatif (0/1+)	27	238	265
	Toplam	304	301	605
		n/N	% (%95 Puan CI)	
Pozitif Uyum Yüzdesi		277/304	91.1 (87.4, 93.8)	

Tablo 10. BenchMark ULTRA cihazı üzerinde IHC ve VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini Karşılaştırması: Tüm Tesislerden Havuzlanan Veriler.

		VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Sonucu		
		Amplifiye	Amplifiye Değil	Toplam
PATHWAY HER2 (4B5) antikor Sonuçları	Pozitif (2+/3+ vakalar)	248	78	326
	Negatif (0/1+)	18	253	271
	Toplam	266	331	597
		n/N	% (%95 Puan CI)	
Pozitif Uyum Yüzdesi		248/266	93.2 (89.6, 95.7)	

Uyum Çalışması: BenchMark ULTRA cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve Dako HER2 IQFISH pharmDx™ Kit tayini karşılaştırması

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayinini, GEA'daki HER2 geni durumunun belirlenmesinde floresan in situ hibridizasyon (FISH) bakımından Dako HER2 IQFISH pharmDx™ Kit ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmek üzere bir uyum çalışması gerçekleştirilmiştir. GEA numuneleri üzerinde tayinin karşılaştırılabilirliği, iki tayinden elde edilen boyama sonuçlarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir (Tablo 11). Yüz otuz dört (134) insan GEA numunesi (amplifiye olan ve olmayan vakaların bir karışımı) VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail kullanılarak boyanmıştır. Aynı kohort Dako HER2 IQFISH pharmDx™ tayini kullanılarak boyanmıştır. Bu kohorttaki hem Dako HER2 IQFISH pharmDx™ tayini hem de VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ile sayılabilen 146 örneğe yönelik negatif, pozitif ve genel uyum oranlarının ayrıntılı sonuçları Tablo 11 ve Tablo 12 üzerinde gösterilmektedir.

Tablo 11. Bir insan GEA numuneleri kohortunda VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve Dako HER2 IQFISH pharmDx™ tayini arasındaki uyum.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Amplifikasyon Durumu	Dako HER2 IQFISH pharmDx™ tayini Amplifikasyon Durumu	
	Ampl.	Ampl. Değil
Ampl.	49	8
Ampl. Değil	5	84

Tablo 12. İnsan GEA numunelerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ve Dako HER2 IQFISH pharmDx™ için negatif, pozitif ve genel uyum oranlarının özeti.

	Negatif Uyum Oranı		Pozitif Uyum Oranı		Genel Uyum Oranı	
	Ham Veri/ Vaka Sayısı	Yüzde (%95 Puan CI)	Ham Veri/ Vaka Sayısı	Yüzde (%95 Puan CI)	Ham Veri/ Vaka Sayısı	Yüzde (%95 Puan CI)
VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail	84/92	91.3 (83.8–95.5)	49/54	90.7 (80.1–96.0)	133/146	91.1 (85.4–94.7)

ANALİTİK PERFORMANS

Meme Karsinomu ile BenchMark IHC/ISH Cihazının Tekrarlanabilirliği ve Kesinliği

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tekrar edilebilirliği ve kesinliği BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ile birlikte değerlendirilmiştir.

İşlem İçi Tekrarlanabilirlik, 28 meme karsinomu numunesi kullanılarak değerlendirilmiştir. Her bir numuneden iki kopya slayt tek bir BenchMark ULTRA, BenchMark XT veya BenchMark GX cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile boyanmıştır. BenchMark XT ve GX cihaz verilerinin analizi için 1.5 ila 2.5 arasında oranlara sahip vakalar, prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır.

Günler Arası Ara Kesinlik ayrıca meme karsinomu numuneleri kullanılarak değerlendirilmiştir. 28 numunenin her birinden kopya slaytlar ardışık olmayan 5 günde BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile boyanmıştır. BenchMark XT ve BenchMark GX cihaz verilerinin analizi için 1.5 ila 2.5 arasında oranlara sahip vakalar, prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır.

İşlem İçi Tekrarlanabilirlik ortalama pozitif uyum (APA), ortalama negatif uyum (ANA) ve genel uyum yüzdesi (OPA) ile belirlenmiştir. Günler Arası Ara Kesinlik değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde pozitif uyum yüzdesi (PPA), negatif uyum yüzdesi (NPA) ve genel uyum yüzdesi (OPA) ile belirlenmiştir. Her iki çalışmanın sonuçlarının bir özeti Tablo 13'te yer almaktadır.

Tablo 13. BenchMark IHC/ISH Cihazı İşlem İçi Tekrarlanabilirliği ve Günler Arası Ara Kesinliği.

Platform	Tekrar Edilebilirlik/ Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
			Tür	n/N	%	%95 CI
ULTRA	İşlem İçi Tekrarlanabilirlik	Amplifiye	APA	194/194	100	(98.1, 100)
		Amplifiye Değil	ANA	186/186	100	(98.0, 100)
		Toplam	OPA	190/190	100	(98.0, 100)
ULTRA	Günler Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	139/139	100	(97.3, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	135/135	100	(97.2, 100)
		Toplam	OPA	274/274	100	(98.6, 100)
XT	İşlem İçi Tekrarlanabilirlik	Amplifiye	APA	128.8/128.8	100	(97.1, 100)
		Amplifiye Değil	ANA	151.2/151.2	100	(97.5, 100)
		Toplam	OPA	140.0/140.0	100	(97.3, 100)

Platform	Tekrar Edilebilirlik/ Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
			Tür	n/N	%	%95 CI
XT	Günler Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	128.8/128.8	100	(97.1, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	151.2/151.2	100	(97.5, 100)
		Toplam	OPA	280.0/280.0	100	(98.6, 100)
GX	İşlem İçi Tekrarlanabilirlik	Amplifiye	APA	128.8/128.8	100	(97.1, 100)
		Amplifiye Değil	ANA	151.2/151.2	100	(97.5, 100)
		Toplam	OPA	140.0/140.0	100	(97.3, 100)
GX	Günler Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	128.8/128.8	100	(97.1, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	151.2/151.2	100	(97.5, 100)
		Toplam	OPA	280.0/280.0	100	(98.6, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdellik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan dört vaka dahil edilmiştir.

Meme Karsinomu ile Cihazlar Arası Ara Kesinlik

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin BenchMark IHC/ISH cihazı ile cihazlar arası ara kesinliği, 3 BenchMark IHC/ISH cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile birlikte VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit kullanımıyla 28 meme karsinomu numunesinin kopya slaytlarının boyanması üzerinden belirlenmiştir. Cihazlar arası ara kesinlik, değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde PPA, NPA ve OPA ile belirlenmiştir. Oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan vakalar prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır (BenchMark XT/BenchMark GX cihazları). Bu çalışmaya yönelik sonuçların bir özeti Tablo 14'te yer almaktadır.

Tablo 14. BenchMark IHC/ISH Cihazlar Arası Ara Kesinliği.

Platform	Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
			Tür	n/N	%	%95 CI
ULTRA	Cihazlar Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	84/84	100	(95.6, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	84/84	100	(95.6, 100)
		Toplam	OPA	168/168	100	(97.8, 100)
XT	Cihazlar Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	77.3/77.3	100	(95.3, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	90.7/90.7	100	(95.9, 100)
		Toplam	OPA	168.0/168.0	100	(97.8, 100)
GX		Amplifiye	PPA	76.2/76.2	100	(95.2, 100)

Platform	Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
			Tür	n/N	%	%95 CI
	Cihazlar Arası Ara Kesinlik	Amplifiye Değil	NPA	90.7/90.7	100	(95.9, 100)
		Toplam	OPA	166.9/166.9	100	(97.8, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdellik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan dört vaka dahil edilmiştir.

Meme Karsinomu ile Okuyucu İçi ve Okuyucular Arası Kesinlik

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin BenchMark IHC/ISH cihazı ile okuyucu içi ve okuyucular arası kesinliği, üç okuyucunun BenchMark ULTRA cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile birlikte VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit kullanımıyla boyanmış 60 meme karsinomu numunesini değerlendirmesi üzerinden belirlenmiştir. Okuyucu içi kesinlik için aynı slayt seti, okumalar arasında en az iki hafta arayla iki kez okunmuştur. Okuyucu içi ve okuyucular arası kesinlik, değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde APA, ANA ve OPA ile belirlenmiştir. Bu çalışmaya yönelik sonuçların bir özeti Tablo 15'te yer almaktadır.

Tablo 15. BenchMark ULTRA Cihazı Okuyucu İçi ve Okuyucular Arası Kesinliği.

Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
		Tür	n/N	%	%95 CI
Okuyucu İçi	Amplifiye	APA	178/181	98.3	(96.3, 100)
	Amplifiye Değil	ANA	174/177	98.3	(96.1, 100)
	Toplam	OPA	176/179	98.3	(96.1, 100)
Okuyucular Arası	Amplifiye	APA	350/362	96.7	(93.2, 99.4)
	Amplifiye Değil	ANA	342/354	96.6	(92.8, 99.4)
	Toplam	OPA	346/358	96.6	(92.8, 99.4)

Not: %95 CI değerleri yüzdellik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan altı vaka dahil edilmiştir.

Meme Karsinomu ile Platformlar Arası Kesinlik

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin BenchMark IHC/ISH cihazı ile platformlar arası kesinliği, BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile birlikte VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit kullanımıyla boyanmış 28 meme karsinomu numunesinin değerlendirilmesi üzerinden belirlenmiştir. Platformlar arası kesinlik, değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde PPA, NPA ve OPA ile belirlenmiştir. Oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan vakalar prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır. Bu çalışmaya yönelik sonuçların bir özeti Tablo 16'da yer almaktadır.

Tablo 16. BenchMark IHC/ISH Cihazı Platformlar Arası Kesinlik.

Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
		Tür	n/N	%	%95 CI
Platformlar Arası Kesinlik	Amplifiye	PPA	230.8/230.8	100	(98.4, 100)
	Amplifiye Değil	NPA	271.0/272.2	99.6	(98.3, 100)

Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
		Tür	n/N	%	%95 CI
	Toplam	OPA	501.8/ 502.9	99.8	(99.2, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan dört vaka dahil edilmiştir.

BenchMark IHC/ISH Cihazı: Gastrik Adenokarsinom ile Tekrar Edilebilirliği ve Kesinliği

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tekrar edilebilirliği ve kesinliği BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ile birlikte değerlendirilmiştir.

İşlem İçi Tekrarlanabilirlik, on dört gastrik adenokarsinom numunesi kullanılarak değerlendirilmiştir. Gastrik adenokarsinom numunelerinin her birinden iki kopya slayt tek bir BenchMark IHC/ISH cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile boyanmıştır. Oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan vakalar prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır.

Günler Arası Ara Kesinlik ayrıca gastrik adenokarsinom numuneleri kullanılarak değerlendirilmiştir. On dört numunenin her birinden kopya slaytlar ardışık olmayan 5 günde BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile boyanmıştır. Oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan vakalar prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır.

İşlem İçi Tekrarlanabilirlik ortalama pozitif uyum (APA), ortalama negatif uyum (ANA) ve genel uyum yüzdesi (OPA) ile belirlenmiştir. Günler Arası Ara Kesinlik değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde pozitif uyum yüzdesi (PPA), negatif uyum yüzdesi (NPA) ve genel uyum yüzdesi (OPA) ile belirlenmiştir. Her iki çalışmanın sonuçlarının bir özeti Tablo 17’de yer almaktadır.

Tablo 17. BenchMark IHC/ISH Cihazı: İşlem İçi Tekrarlanabilirlik ve Günler Arası Ara Kesinlik.

Platform	Tekrar Edilebilirlik/ Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
			Tür	n/N	%	%95 CI
ULTRA	İşlem İçi Tekrarlanabilirlik	Amplifiye	APA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Amplifiye Değil	ANA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Toplam	OPA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
ULTRA	Günler Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Toplam	OPA	140.0/ 140.0	100	(97.3, 100)
XT	İşlem İçi Tekrarlanabilirlik	Amplifiye	APA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Amplifiye Değil	ANA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Toplam	OPA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
XT	Günler Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)

Platform	Tekrar Edilebilirlik/ Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
			Tür	n/N	%	%95 CI
		Toplam	OPA	140.0/ 140.0	100	(97.3, 100)
GX	İşlem İçi Tekrarlanabilirlik	Amplifiye	APA	64.6/ 65.1	99.1	(95.9, 100)
		Amplifiye Değil	ANA	70.0/ 70.6	99.2	(95.2, 100)
		Toplam	OPA	67.3/ 67.9	99.2	(96.9, 100)
GX	Günler Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	67.3/ 67.9	99.2	(96.5, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	70.0/ 70.0	100	(94.8, 100)
		Toplam	OPA	137.3/ 137.9	99.6	(98.5, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan iki vaka dahil edilmiştir.

Gastrik Adenokarsinom ile Cihazlar Arası Ara Kesinlik

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin BenchMark IHC/ISH cihazı ile cihazlar arası ara kesinliği, 3 BenchMark IHC/ISH cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile birlikte VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit kullanımıyla on dört gastrik adenokarsinom numunesinin kopya slaytlarının boyanması üzerinden belirlenmiştir. Cihazlar arası ara kesinlik, değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde PPA, NPA ve OPA ile belirlenmiştir. Oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan vakalar prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır. Bu çalışmaya yönelik sonuçların bir özeti Tablo 18’de yer almaktadır.

Tablo 18. BenchMark IHC/ISH Cihazlar Arası Ara Kesinliği.

Platform	Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
			Tür	n/N	%	%95 CI
ULTRA	Cihazlar Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	42.0/ 42.0	100	(91.6, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	42.0/ 42.0	100	(91.6, 100)
		Toplam	OPA	84.0/ 84.0	100	(95.6, 100)
XT	Cihazlar Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	40.4/ 40.9	98.6	(94.1, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	40.9/ 40.9	100	(91.4, 100)
		Toplam	OPA	81.3/ 81.9	99.3	(97.5, 100)
GX	Cihazlar Arası Ara Kesinlik	Amplifiye	PPA	40.9/ 40.9	100	(91.4, 100)
		Amplifiye Değil	NPA	42.0/ 42.0	100	(91.6, 100)
		Toplam	OPA	82.9/ 82.9	100	(95.6, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan iki vaka dahil edilmiştir.

Gastrik Adenokarsinom ile Okuyucu İçi ve Okuyucular Arası Kesinlik

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin BenchMark IHC/ISH cihazı ile okuyucu içi ve okuyucular arası kesinliği, üç okuyucunun BenchMark ULTRA cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile birlikte VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit kullanımıyla boyanmış 28 gastrik adenokarsinom numunesini değerlendirmesi üzerinden belirlenmiştir. Tüm slaytlar randomize edilmiştir ve vaka tanısına göre maskelenmiştir. Okuyucu içi kesinlik için aynı slayt seti, okumalar arasında en az iki hafta arayla iki kez okunmuştur. Okuyucu içi kesinlik ve okuyucular arası kesinlik, değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde APA, ANA ve OPA ile belirlenmiştir. Bu çalışmaya yönelik sonuçların bir özeti Tablo 19'da yer almaktadır.

Tablo 19. BenchMark ULTRA Cihazı Okuyucu İçi ve Okuyucular Arası Kesinliği.

Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
		Tür	n/N	%	%95 CI
Okuyucular Arası	Amplifiye	APA	80/84	95.2	(90.5, 100)
	Amplifiye Değil	ANA	80/84	95.2	(90.5, 100)
	Toplam	OPA	80/84	95.2	(90.5, 100)
Okuyucu İçi	Amplifiye	APA	82/84	97.6	(95.2, 100)
	Amplifiye Değil	ANA	82/84	97.6	(95.2, 100)
	Toplam	OPA	82/84	97.6	(95.2, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan iki vaka dahil edilmiştir.

Gastrik Adenokarsinom ile Platformlar Arası Kesinlik

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin BenchMark IHC/ISH cihazı ile platformlar arası kesinliği, BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail ile birlikte VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit kullanımıyla boyanmış on dört gastrik adenokarsinom numunesinin değerlendirilmesi üzerinden belirlenmiştir. Platformlar arası kesinlik, değerlendirilebilir popülasyondaki tüm gözlemlerde PPA, NPA ve OPA ile belirlenmiştir. Oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan vakalar prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır. Bu çalışmaya yönelik sonuçların bir özeti Tablo 20'de yer almaktadır.

Tablo 20. BenchMark IHC/ISH Cihazı: Platformlar Arası Kesinlik.

Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
		Tür	n/N	%	%95 CI
Platformlar Arası Kesinlik	Amplifiye	PPA	123.3/123.9	99.5	(98.1, 100)
	Amplifiye Değil	NPA	124.9/124.9	100	(97.0, 100)
	Toplam	OPA	248.2/248.8	99.8	(99.2, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan iki vaka dahil edilmiştir.

Meme Karsinomu ile Lotlar Arası Kesinlik

Lotlar Arası Kesinlik BenchMark ULTRA cihazları üzerinde 3 VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit üretim lotunun test edilmesiyle belirlenmiştir. Her bir prob ve saptama kiti ile yirmi sekiz meme karsinomu vakası boyanmıştır. Tayinin Lotlar Arası Kesinliğine yönelik sonuçların bir özeti Tablo 21'de gösterilmektedir.

Tablo 21. Lotlar Arası Kesinlik.

Kesinlik	Klinik Durum	Uyum			
		Tür	n/N	%	%95 CI
Lotlar Arası	Amplifiye	PPA	121/121	100	(96.9, 100)
	Amplifiye Değil	NPA	123/123	100	(97.0, 100)
	Toplam	OPA	244/244	100	(98.5, 100)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan dört vaka dahil edilmiştir.

Meme Karsinomu ve Gastrik Adenokarsinom ile BenchMark ULTRA Cihazının Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik Çalışması

VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ile birlikte BenchMark ULTRA cihazı üzerinde boyanan meme karsinomu ve gastrik adenokarsinom dokusundaki HER2 geni durumunu belirlemeye yönelik VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin tekrarlanabilirliğini değerlendirmek için bir laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik (ILR) çalışması yürütülmüştür.

Yirmi sekiz FFPE meme ve gastrik adenokarsinom doku numunesi kullanılmıştır ve bu vakaların yaklaşık yarısı HER2 ekspresyon durumu için amplifiye edilmiş ve yarısı HER2 durumu için amplifiye edilmemiştir.

Her numuneden birden fazla doku kesiti alınmış ve 3 harici çalışma tesisine gönderilmiştir. Her bir tesis en az 20 günlük bir sürede ardışık olmayan 5 günün her birinde 28 meme vakası ve 28 gastrik vaka boyanmıştır. BenchMark ULTRA cihazı üzerinde boyamayı takiben bir okuyucu HER2 gen durumu atamak üzere her bir slaydı değerlendirmiştir.

Çalışmanın sonuçları aşağıdaki Tablo 22 ve Tablo 23'te özetlenmiştir. Veriler tüm gözlemler genelinde PPA ve NPA için analiz edilmiştir. Her vakada, tüm değerlendirilebilir gözlemler (amplifiye ile amplifiye değil) her vaka için modal sonuçla karşılaştırılmıştır. Oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan vakalar prevalanslarına göre ağırlıklandırılmıştır. Bu karşılaştırmalar tesislerde ve günlerde havuzlanmış, ardından sonuçlar vakalarda toplu hale getirilmiştir.

Tablo 22. ILR: Meme Karsinomu için BenchMark ULTRA cihazı üzerinde Uyum Oranları.

Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik	Uyum				
	Tür	n/N	%	%95 CI	
Tesisler Arası (3 tesis)	PPA	208.9/208.9	100	(98.2, 100.0)	
	NPA	198.1/200.3	98.9	(96.8, 100.0)	
	OPA	407.0/409.3	99.5	(98.4, 100.0)	
Günler Arası (ardışık olmayan 5 gün)	Tesis A	PPA	72/74	97.3	(92.3, 100.0)
		NPA	63/63	100	(94.3, 100.0)
		OPA	135/137	98.5	(95.6, 100.0)
	Tesis B	PPA	70/70	100	(94.8, 100.0)
		NPA	63/64	98.4	(95.8, 100.0)
		OPA	133/134	99.3	(97.8, 100.0)
	Tesis C	PPA	70/70	100	(94.8, 100.0)
		NPA	69/69	100	(94.7, 100.0)
		OPA	139/139	100	(97.3, 100.0)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan dört vaka dahil edilmiştir.

Tablo 23. ILR: Gastrik Adenokarsinom için BenchMark ULTRA cihazı üzerinde Uyum Oranları.

Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik		Uyum			
		Tür	n/N	%	%95 CI
Tesisler Arası (3 tesis)	PPA	206.8/206.8	100	(98.2, 100.0)	
	NPA	208.4/208.9	99.7	(99.2, 100.0)	
	OPA	415.1/415.7	99.9	(99.6, 100.0)	
Günler Arası (ardışık olmayan 5 gün)	Tesis A	PPA	70/70	100	(94.8, 100.0)
		NPA	69/70	98.6	(96.0, 100.0)
		OPA	139/140	99.3	(97.9, 100.0)
	Tesis B	PPA	67/67	100	(94.6, 100.0)
		NPA	69/69	100	(94.7, 100.0)
		OPA	136/136	100	(97.3, 100.0)
	Tesis C	PPA	70/70	100	(94.8, 100.0)
		NPA	70/70	100	(94.8, 100.0)
		OPA	140/140	100	(97.3, 100.0)

Not: %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır; nokta tahmininin %100 olduğu durumlarda Wilson Puan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya ISH oranları 1.5 ile 2.5 arasında olan dört vaka dahil edilmiştir.

BenchMark ULTRA PLUS Cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Performansı

Meme Karsinomu için BenchMark ULTRA PLUS ile BenchMark ULTRA Cihazları arasındaki Uyum

Amerika Birleşik Devletleri'nde yer alan ayrı kurumlardan üç laboratuvar, BenchMark ULTRA PLUS cihazı/BenchMark ULTRA cihazı arasında bir uyum çalışmasına katılmıştır. HER2 ile amplifiye ve HER2 ile amplifiye olmayan vakalar arasında yaklaşık eşit dağılım ile VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail tayininin boyama aralığını temsil eden 193 benzersiz FFPE invaziv meme karsinomu vakası vardır. Tüm vakalardan doku slaytları, H&E ve Roche şirketine ait VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail ile BenchMark ULTRA cihazında, önerilen boyama protokolü kullanılarak boyanmıştır. Tüm vakalardan boyanmamış doku slaytları randomize edilmiştir ve önerilen VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail boyama protokolü kullanılarak bir BenchMark ULTRA PLUS cihazında boyama için çalışma tesislerine eşit olarak dağıtılmıştır (64–65 vaka/tesis başına). Patologlar, vaka durumunu bilmeden bir BenchMark IHC/ISH cihazında boyalı slaytları değerlendirmiş ve HER2 gen durumunu belirlemiştir. İki haftalık bir süreden sonra, patologlar ikinci BenchMark IHC/ISH cihazında boyalı slaytları değerlendirmiştir. HER2 geni durumu, tümör hücresi çekirdeğinde HER2 geni sinyallerinin kromozom 17 (Chr17) sinyallerine oranı (yani HER2:Chr17 oranı) kullanılarak belirlenmiştir. Oran 2.0 veya daha büyükse, vaka HER2 ile amplifiye olarak kabul edilmiştir; 2.0'dan düşükse, HER2 ile amplifiye olmayan olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar Roche tarafından analiz edilmiştir. OPA, PPA ve NPA oranları sırasıyla %97.1 (535/551), %97.3 (248/255) ve %97.0 (287/296) olmuştur. Sonuçlar Tablo 24'te özetlenmiştir.

Tablo 24. BenchMark ULTRA PLUS/BenchMark ULTRA Cihazı üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail ile Boyalı Meme Karsinomu Vakaları için HER2 Gen Durumunun Havuzlanan Uyumu

BenchMark ULTRA PLUS HER2 Geni Durumu	BenchMark ULTRA HER2 Geni Durumu		Toplam
	Amplifiye	Amplifiye Değil	
Amplifiye	248	9	257
Amplifiye Değil	7	287	294

BenchMark ULTRA PLUS HER2 Geni Durumu	BenchMark ULTRA HER2 Geni Durumu		Toplam
	Amplifiye	Amplifiye Değil	
Toplam	255	296	551
	n/N	% (%95 CI)	
PPA	248/255	97.3 (95.0, 99.2)	
NPA	287/296	97.0 (94.8, 99.0)	
OPA	535/551	97.1 (95.5, 98.6)	

Not: Vaka seçimi sırasında kullanılan 4 diagnostik skor grubunda tabakalandırma ile seçilen 2000 kopya ile iki taraflı %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır [amplifiye (sınırdaki değil), amplifiye değil (sınırdaki değil), sınırdaki amplifiye, sınırdaki amplifiye değil]

Meme Karsinomu ile BenchMark ULTRA PLUS Cihazı Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik Çalışması

VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ile birlikte BenchMark ULTRA PLUS cihazı üzerinde boyanan meme karsinomu dokusundaki HER2 geni durumunu belirlemeye yönelik VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin tekrarlanabilirliğini değerlendirmek için bir laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik (ILR) çalışması yürütülmüştür.

HER2 ile amplifiye ve HER2 ile amplifiye olmayan vakalar arasında yaklaşık eşit dağılım ile VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail tayininin boyama aralığını temsil eden yirmi sekiz benzersiz FFPE invaziv meme karsinomu vakası kullanılmıştır.

Her numuneden birden fazla doku kesiti alınmış ve 3 harici çalışma tesisine gönderilmiştir. Her tesiste minimum 20 günlük bir süre boyunca ardışık olmayan 5 günde BenchMark ULTRA PLUS cihazında 28 vakanın tamamı boyanmıştır. Okuyucular slaytları değerlendirmiş ve HER2 geni durumunu belirlemiştir.

Sonuçlar Tablo 25 ve Tablo 26'da özetlenmiştir. Veriler tüm gözlemlerde PPA, NPA ve OPA için Tablo 25 içinde ve APA, ANA ve OPA için Tablo 26 içinde analiz edilmiştir. Her vakada, tüm değerlendirilebilir gözlemler (amplifiye ile amplifiye değil) her vaka için modal sonuçla karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar tesislerde ve günlerde havuzlanmış, ardından sonuçlar vakalarda toplu hale getirilmiştir.

Tablo 25. ILR: Meme Karsinomu için BenchMark ULTRA PLUS cihazı üzerinde Modal Durum ile Uyum Oranları.

Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik	Uyum			
	Tür	n/N	%	%95 CI
Genel	PPA	372/381	97.6	(95.3, 100.0)
	NPA	421/440	95.7	(91.1, 99.3)
	OPA	793/821	96.6	(94.3, 98.5)
Tesisler Arası (3 tesis)	PPA	380/389	97.7	(95.3, 100.0)
	NPA	421/432	97.5	(95.3, 99.3)
	OPA	801/821	97.6	(96.3, 98.7)
Okuyucular Arası	PPA	383/389	98.5	(97.1, 99.5)
	NPA	424/432	98.1	(97.1, 99.0)
	OPA	807/821	98.3	(97.5, 99.0)

Not: İki taraflı %95 CI değerleri yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 26. ILR: Meme Karsinomu için BenchMark ULTRA PLUS cihazı üzerinde Çift Uyum Oranları

Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik	Uyum			
	Tür	n/N	%	%95 CI
Tesisler Arası (3 tesis)	APA	7204/7652	94.1	(91.1, 96.9)
	ANA	7968/8416	94.7	(91.5, 97.4)
	OPA	7586/8034	94.4	(91.5, 97.1)
Okuyucular Arası	APA	370/390	94.9	(92.5, 97.1)
	ANA	408/428	95.3	(92.7, 97.5)
	OPA	389/409	95.1	(92.7, 97.3)
Günler Arası (ardışık olmayan 5 gün)	APA	1472/1519	96.9	(95.5, 98.2)
	ANA	1642/1689	97.2	(95.8, 98.5)
	OPA	1557/1604	97.1	(95.7, 98.3)

Not: İki tarafı %95 CI değerleri yüzdellik bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Gastrik Karsinom için BenchMark ULTRA PLUS ile BenchMark ULTRA Cihazları Arasındaki Uyum

HER2 ile amplifiye ve HER2 ile amplifiye olmayan vakalar arasında yaklaşık eşit dağılım ile VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail tayininin boyama aralığını temsil eden 109 benzersiz FFPE invaziv gastrik karsinom vakası vardır. Doku slaytları, önerilen boyama protokolü kullanılarak BenchMark ULTRA PLUS cihazı ve BenchMark ULTRA cihazı üzerinde boyanmıştır. Boyalı slaytlar bir patolog tarafından puanlanmıştır. HER2 geni durumuna (HER2 ile amplifiye, HER2 ile amplifiye değil) dayalı olarak VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail boyaması için genel uyum yüzdesi %92.4 olmuştur. %84.4–%96.5 olmak üzere iki tarafı %95 güven aralıkları Wilson skor yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Arka plan ve morfoloji kabul edilebilirliği oranları tüm vakalar için BenchMark ULTRA PLUS cihazı için %100 olmuştur.

Gastrik Karsinom için BenchMark ULTRA PLUS Cihazı Kesinlik Çalışmaları

VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail tayininin boyama aralığını temsil eden on iki gastrik karsinom doku vakası, BenchMark ULTRA PLUS cihazında test edilmiştir. Vakalar HER2 ile amplifiye ve HER2 ile amplifiye olmayan HER2 geni durumu arasında yaklaşık eşit dağılıma sahip olmuştur. Boyalı slaytlar bir patolog tarafından değerlendirilmiştir. Tüm uyum oranları yüzdellik bootstrap yöntemi kullanılarak iki tarafı %95 güven aralıkları kullanılarak hesaplanmıştır.

İşlem İçi Tekrarlanabilirlik için, vaka başına beş slayt BenchMark ULTRA PLUS cihazında boyanmıştır. HER2 geni durumuna (HER2 ile amplifiye, HER2 ile amplifiye olmayan) dayalı olarak VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail boyaması için genel uyum yüzdesi %91.7 (%95 CI: 81.7, 100.0) olarak sonuçlanmıştır.

Günler Arası Ara Kesinlik için, vaka başına iki slayt, ardışık olmayan beş günlük bir süre içinde gerçekleştirilen beş boyama işleminde BenchMark ULTRA PLUS cihazı üzerinde boyanmıştır. HER2 geni durumuna (HER2 ile amplifiye, HER2 ile amplifiye olmayan) dayalı olarak VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail boyaması için genel uyum yüzdesi %90.8 (%95 CI: 80.8, 100.0) olarak sonuçlanmıştır.

Cihazlar Arası Ara Kesinlik için, vaka başına iki slayt üç BenchMark ULTRA PLUS cihazının her birinde boyanmıştır. HER2 geni durumuna (HER2 ile amplifiye, HER2 ile amplifiye olmayan) dayalı olarak VENTANA HER2 Dual ISH Cocktail boyaması için genel uyum yüzdesi %92.6 (%95 CI: 84.5, 100.0) olarak sonuçlanmıştır.

Hassasiyet ve Spesifite

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin analiz spesifitesi (hibridizasyon etkililiği) bir BenchMark ULTRA cihazı üzerinde normal insan metafaz yayımlarının boyanmasıyla belirlenmiştir. Analiz edilen 100 metafaz yayılımının %100'ü hem HER2, hem de Kromozom 17 problemlerine yönelik olarak spesifik kolokalizasyon sergilemiştir.

Analiz hassasiyeti probun spesifik hedefini saptama kabiliyetini ölçer, spesifte ise probun hedefi numunedeki diğer sekanslardan ayırt etme kabiliyetidir. Tayin her bir insan dokusunda dahil olan bir analiz hassasiyeti ve spesifte kontrolüne sahiptir. Normal insan hücrelerinin (stromal fibroblastlar, endotelial hücreler, lenfositler ve neoplastik olmayan

meme epitelyal hücreleri dahil) 1–2 HER2 ve Chr17 kopyası içermesi gerekir. Dolayısıyla, normal insan hücrelerinde 1-2 HER2 ve Chr17 kopyası problemlerinin spesifik hedeflerini saptadığına işaret eder (bir hassasiyet ölçümü). Normal insan hücrelerinde bir ila iki HER2 ve Chr17 kopyası aynı zamanda probun yalnızca spesifik hedeflerini saptadığına işaret eder (bir spesifte ölçümü). VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini için ASCO CAP kılavuz ilkeleri uyarınca sabitlenmiş (6 ila 72 saat süreyle %10 NBF) 40 meme örneği üstünde ilk geçiş oranı BenchMark ULTRA cihazları üzerinde %97.5 (87.1–99.6), BenchMark XT cihazları üzerinde %100 (91.2–100) ve BenchMark GX cihazları üzerinde %97.5 (87.1–99.6) olmuştur. Prob kontrolü olmadan aynı 40 meme örneğinde spesifte, BenchMark ULTRA cihazlarında %100 (91.2–100) olmuştur.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini için ASCO CAP kılavuz ilkeleri uyarınca sabitlenmiş (6 ila 72 saat süreyle %10 NBF) 39 gastrik örnek üstünde ilk geçiş oranı BenchMark ULTRA cihazları üzerinde %97.4 (86.8–99.5), BenchMark XT cihazları üzerinde %97.4 (86.8–99.5) ve BenchMark GX cihazları üzerinde %100 (91–100) olmuştur.

Analiz hassasiyeti ve spesifte, birden fazla normal ve neoplastik insan dokusu vakasının VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini, VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit ve VENTANA Red ISH DIG Detection Kit ile boyanmasıyla da değerlendirilmiştir. Sonuçlar, Tablo 27 ve Tablo 28'de listelenmektedir. Normal ve neoplastik dokular üzerinde VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayini ile hiçbir beklenmedik boyama gözlemlenmiştir.

Tablo 27. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin hassasiyeti/spesifitesi, FFPE normal dokularının test edilmesiyle belirlenmiştir.

Doku	kabul edilebilir/ toplam vaka sayısı	Doku	kabul edilebilir/ toplam vaka sayısı
Adrenal bez	3/3	Akciğer	3/3
Mesane	3/3	Lenf düğümü	3/3
Kemik iliği	3/3	Mezotelyum	3/3
Yumurtalık	3/3	Pankreas	3/3
Meme	3/3	Paratiroid bezi	3/3
Serebellum	3/3	Periferik sinir	3/3
Serebrum	3/3	Prostat	3/3
Rahim boynu	3/3	İskelet Kası	3/3
Kolon	3/3	Deri	3/3
Endometriyum	3/3	Dalak	3/3
Özofagus	3/3	Mide	3/3
Kalp	3/3	Testis	3/3
Hipofiz (Pituiter)	3/3	Timüs	3/3
Bağırsak	3/3	Tiroit	3/3
Böbrek	3/3	Dil/Tükürük bezi	3/3
Karaciğer	3/3	Bademcik	3/3

Tablo 28. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail tayininin hassasiyeti/spesifitesi, çeşitli FFPE neoplastik dokularının test edilmesiyle belirlenmiştir.

Patoloji	kabul edilebilir/ toplam vaka sayısı
Gliyoblastom (Serebrum)	3/3

Patoloji	kabul edilebilir/ toplam vaka sayısı
Menenjiyom (Serebrum)	1/1
Oligodendrogliom (Serebrum)	1/1
Endometroid Karsinom (Yumurtalık)	1/1
Adenokarsinom (Yumurtalık)	1/1
Pankreatik nöroendokrin neoplazma (Pankreas)	1/1
Adenokarsinom (Pankreas)	1/1
Seminom (Testis)	1/1
Embriyonal karsinom (Testis)	1/1
Medüller karsinom (Tiroit)	1/1
Papiller karsinom (Tiroit)	1/1
İn situ duktal karsinom (Meme)	1/1
İnvaziv duktal karsinom (Meme)	2/2
B hücreli lenfoma; NOS (Dalak)	1/1
Küçük hücreli karsinom (Akciğer)	1/1
Skumöz hücreli karsinom (Akciğer)	1/1
Adenokarsinom (Özofagus)	1/1
Skumöz hücreli karsinom (Özofagus)	1/1
Adenokarsinom (Mide)	1/1
Adenokarsinom (Gastroözofageal bileşke)	1/1
Adenokarsinom (İnce bağırsak)	1/1
Gastrointestinal stromal tümör (GIST) (İnce bağırsak)	1/1
Gastrointestinal stromal tümör (GIST) (Kolon)	1/1
Adenokarsinom (Kolon)	1/1
Adenokarsinom (Rektum)	1/1
Gastrointestinal stromal tümör (GIST) (Rektum)	1/1
Hepatoblastom (Karaciğer)	1/1
Hepatoselüler karsinom (Karaciğer)	1/1
Berrak hücreli karsinom (Böbrek)	1/1
Adenokarsinom (Prostat)	2/2
Leyomyom (Rahim)	1/1
Endometrioid adenokarsinom (Rahim)	1/1
Berrak hücreli karsinom (Rahim)	1/1
Skumöz hücreli karsinom (Rahim boynu)	2/2
Embriyonal rabdomyosarkom (Çizgili kas)	1/1
Skumöz hücreli karsinom (Deri)	1/1
Bazal hücreli karsinom (Deri)	1/1
Nörofibrom (Lumbar)	1/1

Patoloji	kabul edilebilir/ toplam vaka sayısı
Nöroblastom (Retroperiton)	1/1
Mezotelyom (Periton)	1/1
B hücreli lenfoma; NOS (Lenf düğümü)	2/2
Hodgkin lenfoma (Lenf düğümü)	3/3
Anaplastik büyük hücreli lenfoma (Lenf düğümü)	1/1
Leyomyosarkom (Mesane)	1/1
Ürotelyal karsinom (Mesane)	1/1
Osteosarkom (Kemik)	1/1
Mezotelyom (Periton)	1/1
Leyomyosarkom (Düz kas)	1/1

SORUN GİDERME

Tablo 29. Sorun Giderme Çözümleri.

Sorun	Çözüm
SISH Boyaması Yok veya Zayıf	<ol style="list-style-type: none"> 1. Reaktif dağıtıcılarının doğru işlev gösterdiğinden (yani tıkalı veya boş olmadığından) ve hacimli çözümlerin doldurulduğundan emin olun. Reaktif dağıtıcısı hazırlama haznesinde veya menisküste lif ya da çökelti gibi yabancı maddeler veya partiküller olup olmadığını kontrol edin. Dağıtıcı tıkanmışsa dağıtıcıyı kullanmayın ve yerel destek temsilcinizle irtibat kurun. Aksi takdirde dağıtıcıyı bir atık kabı üzerine getirerek, nozul kapağını çıkararak ve dağıtıcının üst kısmına bastırarak tekrar hazırlayın. Boyama hala zayıfsa veya mevcut değilse aşağıdaki 2. adıma geçin. 2. Fiksasyon tipinin, sürenin ve kesit kalınlığının ISH bazlı tayinler için uygun olduğundan emin olun. 3. SISH sinyalinin korunması için SISH ile uyumlu sabitleme ortamları (bkz. Tablo 30) kullanıldığınından emin olun. Boyama hala zayıfsa veya mevcut değilse aşağıdaki 4. adıma geçin. 4. CC1 süresini > 16 dakikaya çıkarın. 5. CC2 süresini gastrik karsinom/GEA için > 16 dakikaya veya meme karsinomu için > 24 dakikaya çıkarın. 6. Nükleer morfoloji intakt ise ISH Protease 3 süresini gastrik karsinom için > 16 dakikaya veya meme karsinomu için > 20 dakikaya çıkarın.
Red ISH Boyama Yok veya Zayıf	<ol style="list-style-type: none"> 1. Reaktif dağıtıcılarının doğru işlev gösterdiğinden (yani tıkalı veya boş olmadığından) ve hacimli çözümlerin doldurulduğundan emin olun. Boyama hala zayıfsa veya mevcut değilse aşağıdaki 2. adıma geçin. 2. Red ISH sinyallerinin degrade olmasına yol açacağı için boyalı slaytların dehidre edilmesinde alkol banyolarından ve uzatılmış ksilen yıkamalarından yararlanılmadığına emin olun. Boyama hala zayıfsa veya mevcut değilse aşağıdaki 3. adıma geçin. 3. Fiksasyon tipinin, sürenin ve kesit kalınlığının ISH bazlı tayinler için uygun olduğundan emin olun. 4. CC1 süresini > 16 dakikaya çıkarın. 5. CC2 süresini gastrik karsinom için > 16 dakikaya veya meme karsinomu için > 24 dakikaya çıkarın. 6. Nükleer morfoloji intakt ise ISH Protease 3 süresini gastrik karsinom için > 16 dakikaya veya meme karsinomu için > 20 dakikaya çıkarın.

Sorun	Çözüm
Spesifik olmayan Red ISH Arka Planı	<ol style="list-style-type: none"> Pozitif yüklü slaytlar kullanıldığından ve numunenin ISH bazlı tayinler için uygun şekilde sabitlendiğinden ve kesitlere ayrıldığından emin olun. Red ISH arka planı spesifik Red ISH sinyalinden ayırt edilebiliyorsa slaydı sayın ancak spesifik olmayan Red ISH sinyallerini saymayın. Çekirdekteki Red ISH arka planı sayıma olumsuz etki ediyorsa 76 °C veya 78 °C sıklık yıkama sıcaklığından yararlanarak boyamayı tekrarlayın. Proteaz veya hücre iyileştirme süresini azaltmak da kırmızı arka planı hafifletir.
Spesifik Olmayan SISH Arka Planı	<ol style="list-style-type: none"> Pozitif yüklü slaytlar kullanıldığından ve numunenin ISH bazlı tayinler için uygun şekilde sabitlendiğinden ve kesitlere ayrıldığından emin olun. SISH arka planı spesifik SISH sinyalinden ayırt edilebiliyorsa slaydı sayın ancak spesifik olmayan sinyalleri saymayın. Çekirdekteki SISH arka planı sayıma olumsuz etki ediyorsa daha düşük proteaz işlemi veya daha düşük hücre iyileştirme süresi ile boyamayı tekrarlayın.
Çökeltme	<ol style="list-style-type: none"> Çökeltme artefaktı sayıma olumsuz etki ediyorsa boyamayı tekrarlayın. SISH arka planı spesifik SISH sinyalinden ayırt edilebiliyorsa slaydı sayın ancak spesifik olmayan sinyalleri saymayın. Barkod slayt etiketlerinin ortalandığından ve cam slayda etiket sarkması olmayacak şekilde uygulandığından emin olun. Çift etiketleme yapmayın veya barkod etiketlerini tekrar uygulamayın.
Kabarıkçıklaşma	<ol style="list-style-type: none"> Kabarıkçıklaşma sayıma olumsuz etki ediyorsa analiz öncesi prosedürlerin ve örnek kalınlığının tavsiye edilen şekilde olduğundan emin olun.
Doku slaytlardan çıkıyor.	<ol style="list-style-type: none"> Pozitif yüklü slaytların kullanıldığından emin olun.

Tablo 30. Sabitleme Ortamının SISH tabanlı tayinlerle uyumluluğu.

Sabitlenme Ortamları	Üretici	Tip (Ksilen, alkol, aköz)	SISH ile Uyumluluk
Entellan	Merck	Ksilen	Hayır
Entellan New	Merck	Ksilen	Hayır
Eukitt	EMS	Ksilen	Hayır
HSR	System	Ksilen	Hayır
Malinol	Muto Chemical	Ksilen	Hayır
Acrytol	SurgiPath	Ksilen	Evet
Alcolmount	Diapath	Alkol	Evet
BioMount 2	BBInternational	Ksilen	Evet
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Ksilen	Evet
Cytoseal XYL	Richard Allan Scientific	Ksilen	Evet
Diamount	Diapath	Ksilen	Evet
DPX	BDH: Raymond Lamb	Ksilen	Evet
FloTexx	Lerner Labs	Ksilen	Evet
Gel Mount	Biomedica	Aköz	Evet
Histomount	Raymond Lamb	Ksilen	Evet

Sabitlenme Ortamları	Üretici	Tip (Ksilen, alkol, aköz)	SISH ile Uyumluluk
MicroMount	SurgiPath	Ksilen	Evet
MM24	SurgiPath	Ksilen	Evet
Mountex	Histolab	Ksilen	Evet
MountQuick	Daido Sangyo Co.	Aköz	Evet
Paramount	Protaqs Quartett: Dako	Ksilen	Evet
Permunt	Fisher	Ksilen	Evet
Pertex	Cell Path	Ksilen	Evet
Shandon Consul mount	Thermo Scientific	Ksilen	Evet
Softmount	WAKO	Lemasol A	Evet
SureMount	Triangle Biomedical Sciences	Ksilen	Evet
Thermo EZ Mount	Thermo Scientific	Ksilen	Evet
Ultramount	Dako	Ksilen	Evet

REFERANSLAR

- Moasser MM. The Oncogene Her2: Its Signaling and Transforming Functions and Its Role in Human Cancer Pathogenesis. *Oncogene*. 2007;26(45):6469-6487.
- Hsu JL, Hung MC. The Role of Her2, Egr, and Other Receptor Tyrosine Kinases in Breast Cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2016;35(4):575-588.
- Hudis CA. Trastuzumab—Mechanism of Action and Use in Clinical Practice. *N Engl J Med*. 2007;357(1):39-51.
- Comejo KM, Kandil D, Khan A, et al. Theranostic and Molecular Classification of Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(1):44-56.
- Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early Breast Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up. *Ann Oncol*. 2019.
- Ferretti G, Felici A, Papaldo P, et al. Her2/Neu Role in Breast Cancer: From a Prognostic Foe to a Predictive Friend. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2007;19(1):56-62.
- Moasser MM, Krop IE. The Evolving Landscape of Her2 Targeting in Breast Cancer. *JAMA Oncol*. 2015;1(8):1154-1161.
- Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20:719-726.
- Baselga J, Carbonell X, Castaneda-Soto NJ, et al. Phase II study of efficacy, safety, and pharmacokinetics of trastuzumab monotherapy administered on a 3-weekly schedule. *J Clin Oncol*. 2005;23:2162-2171.
- Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Concurrent administration of anti-HER2 monoclonal antibody and first-line chemotherapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer. A phase III, multinational, randomized controlled trial. *N Engl J Med*. 2001;344:783-792.
- Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, et al. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatments: The M77001 Study Group. *J Clin Oncol*. 2005;23:4265-4274.
- Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:1659-1672.
- Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:1673-1684.
- Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1364-1382
- Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al: ToGA Trial Investigators: Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for

treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): A phase 3, open-label, randomised controlled trial. Lancet 2010;376:687-697.

16. Subasinghe D, Acott N, Kumarasinghe MP. A Survival Guide to Her2 Testing in Gastric/Gastroesophageal Junction Carcinoma. Gastrointest Endosc. 2019;90(1):44-54.
17. Smyth EC, Verheij M, Allum W, et al. Gastric Cancer: Esmo Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up. Ann Oncol. 2016;27(suppl 5):v38-v49
18. Van Cutsem E, Bang YJ, Feng-Yi F, et al. Her2 Screening Data from Toga: Targeting Her2 in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer. Gastric Cancer. 2015;18(3):476-484.
19. Abrahao-Machado LF, Scapulatempo-Neto C. Her2 Testing in Gastric Cancer: An Update. World J Gastroenterol. 2016;22(19):4619-4625.
20. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
21. Middleton LP, et al. Implementation of American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists HER2 Guideline Recommendations in a tertiary care facility increases HER2 immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization concordance and decreases the number of inconclusive cases. Arch Pathol Lab Med. 2009;133:775-780.
22. Khoury T, Sait S, Hwang H, Chandrasekhar R, Wilding G, Tan D, Kulkarni S. Delay to formalin fixation effect on breast biomarkers. Mod Pathol. 2009;22:1457-1467.
23. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
24. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
25. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2007.
26. CLSI (formerly NCCLS). Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunocytochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.
27. Reinholz MM, et al. Breast cancer and aneusomy 17: Implications for carcinogenesis and therapeutic response. Lancet Oncol. 2009 Mar;10:267-277.

NOT: Bu belgede, ondalık bir sayının tam sayı ve kesir kısımlarını ayırmak için ondalık ayırıcı olarak her zaman nokta kullanılmıştır. Binlik basamaklar için ayırıcı kullanılmamıştır.

Güvenlik ve performans özeti burada bulabilirsiniz:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Semboller

Ventana, ISO 15223-1 standardında listelenenlere ek olarak aşağıdaki sembol ve işaretleri kullanmaktadır (USA için: daha fazla bilgi için elabdoc.roche.com/symbols adresine bakın).

GTIN

Küresel Ticari Ürün Numarası

Rx only

USA için: Dikkat: Federal yasa bu cihazın satışını bir doktora veya doktor siparişiyle yapılacak şekilde sınırlamaktadır.

REVİZYON GEÇMİŞİ

Rev	Güncellemeler
C	Uyarılar ve Önlemler ve Referanslar Bölümlerinde güncellemeler yapıldı. Mevcut şablon güncellendi.

FİKRİ MÜLKİYET

VENTANA, BENCHMARK, HYBREADY, PATHWAY ve ULTRAVIEW, Roche şirketinin ticari markalarıdır. Tüm diğer ürün adları ve ticari markalar, ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

İLETİŞİM BİLGİLERİ



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

www.roche.com



1. Vaka Kimliği/Hasta Kimliği:	2. Bu vaka sayılabilir mi? 2a. <input type="checkbox"/> Evet-No. 3'e geçin 2b. <input type="checkbox"/> Hayır- No. 3'ü atlayın. No. 4'e geçin	3. Tümör heterojenitesi mevcut mu? 3a. <input type="checkbox"/> Evet, No. 4'ü atlayın. No. 5'e geçin. 3b. <input type="checkbox"/> Hayır, No. 4'ü atlayın. No. 5'e geçin.
4. Bu vaka sayılamaz çünkü (TÜM geçerli şıkları işaretleyin):	4a. <input type="checkbox"/> ISH boyalı slaydında doku kalmamıştı	4b. <input type="checkbox"/> ISH boyalı slaydındaki dokuda invaziv karsinom yoktu
4e. <input type="checkbox"/> Dahili Pozitif Kontrol sinyali saptanamıyor <input type="checkbox"/> HER2 <input type="checkbox"/> Chr 17	4f. <input type="checkbox"/> Hedef hücrelerde zayıf/mevcut olmayan ISH boyaması, puanlanamıyor <input type="checkbox"/> HER2 <input type="checkbox"/> Chr 17	4g. <input type="checkbox"/> Diğer (belirtin):
4c. <input type="checkbox"/> Nükleer Morfoloji kabul edilemez; normal hücrelerin doku yapı unsurları hedef karsinom hücrelerinkinden ayırt edilemiyor.		4d. <input type="checkbox"/> Arka plan kabul edilemez, ISH boyalı slaydının puanlanmasına olumsuz etki ediyor <input type="checkbox"/> HER2 <input type="checkbox"/> Chr 17

5. Hedef Alan 1'i Sayın: 20 çekirdeğin her birinde HER2 sinyalini ve Chr17 sinyalini sayın. HER2 sinyal sayılarını toplayın. Chr 17 sayılarını toplayın. TOPLAM HER2 sinyal sayısını TOPLAM Chr 17 sinyal sayısına bölerek gen durumu oranını oluşturun. 1 ondalık basamak olacak şekilde yuvarlayın. Sinyal gruplarının sayılıp sayılmadığını belgelendirin.

HEDEF ALAN 1 SİNYAL SAYISI – 20 çekirdek																					5x Yorumları				
	5a	5b	5c	5d	5e	5f	5g	5h	5i	5j	5k	5l	5m	5n	5o	5p	5q	5r	5s	5t	5u	5v	5w		
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	TOPLAM	ORAN	Gruplar Mevcut mu?		
HER2																								<input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır	
Chr17																								<input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır	

6. 20 çekirdekten sonuç: 6a. Amplifiye değil: HER2/Chr17 < 2.0 veya 6b. Amplifiye: HER2/Chr17 ≥ 2.0

HER2/Chr17 oranının 1.8 ile 2.2 arasında olması durumunda ek 20 çekirdek daha sayılmalıdır.

7. Hedef Alan 2'yi Sayın: 20 çekirdeğin her birinde HER2 sinyalini ve Chr17 sinyalini sayın. HER2 sinyal sayılarını toplayın. Chr 17 sayılarını toplayın. Sinyal gruplarının sayılıp sayılmadığını belgelendirin.

HEDEF ALAN 2 SİNYAL SAYISI – 2. 20 çekirdek (hedef alan 1 oranı 1.8–2.2 arasında ise)																					8x Yorumları			
	7a	7b	7c	7d	7e	7f	7g	7h	7i	7j	7k	7l	7m	7n	7o	7p	7q	7r	7s	7t	7u	8w		
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	TOPLAM	Gruplar Mevcut mu?		
HER2																							<input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır	
Chr17																							<input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır	

8. 40 çekirdeğin tümünden sonuç:

8a. Hedef Alan 1 HER2 Toplam _____ + Hedef Alan 2 HER2 Toplam _____ = Toplam HER2 sayısı _____
(5u kutucuğundan) (7u kutucuğundan)

8c. Oran: Toplam HER2/Toplam Chr17

8b. Hedef Alan 1 Chr17 Toplam _____ + Hedef Alan 2 Chr17 Toplam _____ = Toplam Chr17 sayısı _____
(5u kutucuğundan) (7u kutucuğundan)

8d. 40 çekirdekten Nihai Sonuç: Amplifiye değil: HER2/Chr17 < 2.0 veya Amplifiye: HER2/Chr ≥ 2.0

Puanlayan: _____

Tarih: _____