

In-situ-Hybridisierung

ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Sonde



ZYTO MED
SYSTEMS

ZytoDot® 2C CISH zur Bestimmung des HER2-Status von Mammakarzinomen

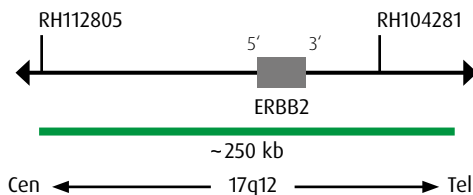
ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Sonde

Die ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Sonde unserer Schwesterfirma ZytoVision GmbH ermöglicht den gleichzeitigen Nachweis des humanen ERBB2 (HER2)-Gens und des Zentromers von Chromosom 17 (CEN 17) mittels chromogener In-situ-Hybridisierung (CISH) an formalinfixierten Gewebeproben. Die Sonde ist für die Verwendung in Kombination mit dem ZytoDot 2C CISH Implementation Kit (Bestell-Nr. C-3044-10/-40) vorgesehen.

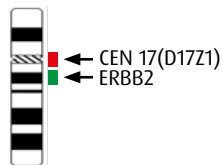
► Technik

Die ZytoDot® 2C ERBB2/CEN 17 CISH kombiniert eine Digoxigenin (DIG)-markierte Sonde für das ERBB2 (HER2)-Gen mit einer Dinitrophenyl (DNP)-markierten

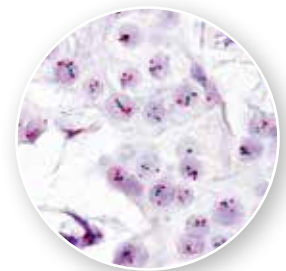
ten Sonde für die Alpha-Satelliten-Region des Zentromers von Chromosom 17.



Sondendesign der ZytoDot® 2C ERBB2 Sonde
(nicht maßstabsgetreu)



Ideogramm des Chromosoms 17
(mit Hybridisierungsloci)



ZytoDot® 2C ERBB2/CEN 17 Sonde
Mammakarzinom (grünes Signal:
ERBB2, rotes Signal: CEN 17)

Der Nachweis der hybridisierten Sonden erfolgt durch Inkubation des Gewebeschnittes mit einem Anti-DIG/DNP-Antikörpercocktail sowie einem HRP/AP-Polymer-Gemisch. Die enzymatische Aktivierung

der Chromogene AP-Red und HRP-Green führt schließlich zur Entstehung kräftiger permanenter roter bzw. grüner Signale (siehe Abbildung 1: ZytoDot® 2C System).

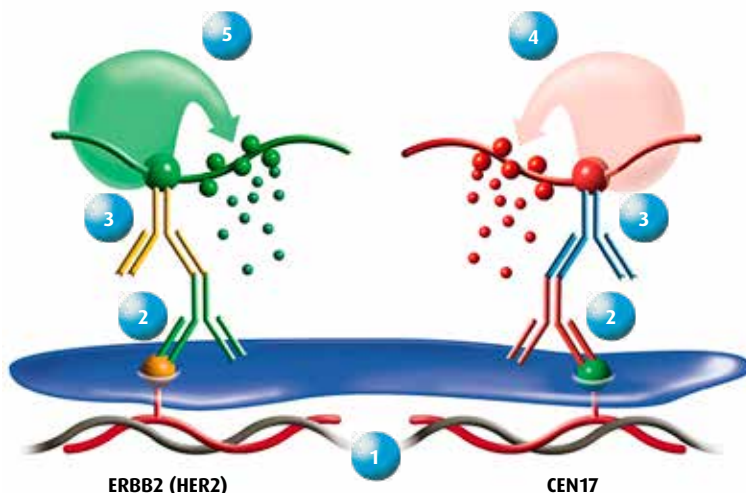


Abbildung 1: ZytoDot® 2C System

- 1 DIG/DNP markierter Sondencocktail ERBB2/CEN 17
- 2 Maus-Anti-DIG/Kaninchen-Anti-DNP Cocktail
- 3 HRP-Anti-Maus/AP-Anti-Kaninchen Polymer
- 4 AP-Red Chromogen
- 5 HRP-Green Chromogen

In-situ-Hybridisierung

ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Sonde



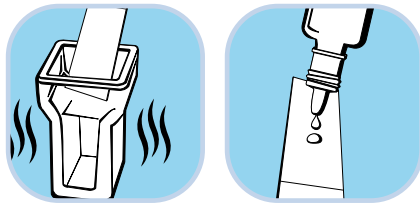
► Ablauf der ZytoDot® 2C ERBB2/CEN 17 CISH

Der Zeitbedarf für die Gewebepreparation am ersten Tag beträgt ca. 1,5 Stunden, die Hybridisierung der Sonde erfolgt über Nacht (~16h-18h).

Das stringente Waschen und die immunhistochemische Detektion der Sonde am zweiten Tag benötigt manuell ca. 2 Stunden.

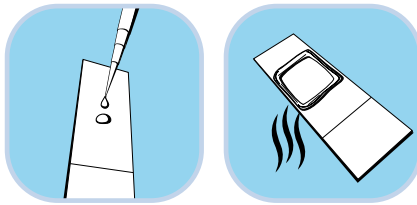
VORBEHANDLUNG

1,5 Stunden



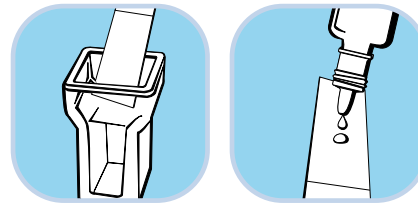
HYBRIDISIERUNG

über Nacht



STRINGENTES WASCHEN UND DETEKTION

2 Stunden



AUSWERTUNG



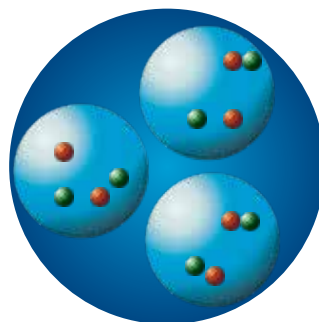
► Auswertung

Die Auswertung der Schnitte kann mit einem 40x Objektiv lichtmikroskopisch erfolgen. In einem normalen Interphase-Zellkern sind jeweils zwei rote (CEN 17) und zwei grüne Signale (ERBB2) zu erwarten. In Zellen mit einer Amplifikation des ERBB2 (HER2)-Genlocus oder einer Polysomie sind

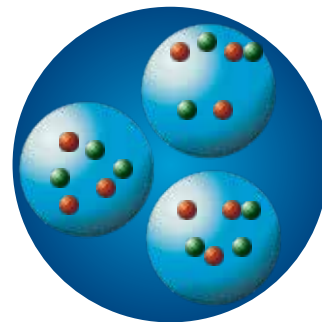
entsprechend vermehrt grüne und rote Signale sichtbar. Die Interpretation erfolgt gemäß der aktuellen S3-Leitlinie für das Mammakarzinom bzw. den Empfehlungen der US-amerikanischen Fachgesellschaften ASCO/CAP zur HER2-Testung beim Mammakarzinom.

Typische Signalmuster

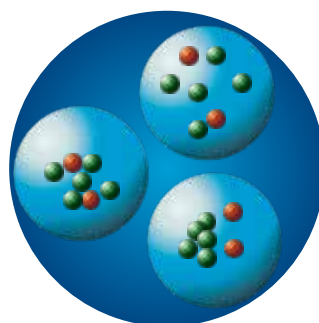
- grünes Signal: ERBB2 (HER2)
- rotes Signal: CEN 17



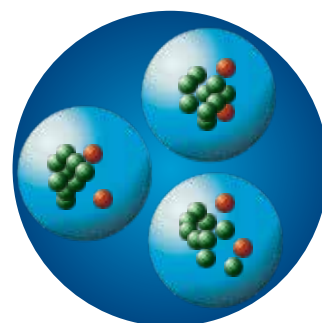
Normale Zellkerne



Aneusomie des Chromosoms 17



ERBB2 (HER2)-Genamplifikation



ERBB2 (HER2)-Genamplifikation mit Clusterbildung

► MIM-Nummer

ERBB2: MIM 164870

erb-b2 receptor tyrosine kinase 2

► **Interpretation der ERBB2 (HER2) In-situ-Hybridisierung am Mammakarzinom nach den ASCO/CAP-Empfehlungen von 2018 [4]**

ERBB2-ISH negativ	unklares Testergebnis	ERBB2-ISH positiv
ERBB2/CEN 17-Doppelsonde		
Quotient ERBB2/CEN 17 < 2,0 und Ø ERBB2-Kopienzahl < 4,0/Kern	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Quotient ERBB2/CEN 17 ≥ 2,0 und Ø ERBB2-Kopienzahl < 4,0/Kern^{*1} ▶ Quotient ERBB2/CEN 17 < 2,0 und Ø ERBB2-Kopienzahl ≥ 6,0/Kern^{*2} ▶ Quotient ERBB2/CEN 17 < 2,0 und Ø ERBB2-Kopienzahl ≥ 4,0 und < 6,0/Kern^{*3} 	Quotient ERBB2/CEN 17 ≥ 2,0 und Ø ERBB2-Kopienzahl ≥ 4,0/Kern
ERBB2-Einzelsonde		
Ø ERBB2-Kopienzahl < 4,0/Kern	Ø ERBB2-Kopienzahl ≥ 4,0 und < 6,0/Kern ^{*4}	Ø ERBB2-Kopienzahl ≥ 6,0/Kern

* **Weitere erforderliche Maßnahmen:**

- ▶ ¹Wenn IHC 2+, dann Auszählung von mind. 20 Zellen durch einen unabhängigen Beobachter. Bei unverändertem ISH-Ergebnis → ISH negativ mit Kommentar.
- ▶ ²Wenn IHC 2+, dann Auszählung von mind. 20 Zellen durch einen unabhängigen Beobachter. Bei unverändertem ISH-Ergebnis → ISH positiv.
- ▶ ³ Wenn IHC 2+, dann Auszählung von mind. 20 Zellen durch einen unabhängigen Beobachter. Bei unverändertem ISH-Ergebnis → ISH negativ mit Kommentar.
- ▶ ⁴siehe Wolff *et al.* J Clin Oncol 2018 [4]

► **Ringversuche**

ZytoMed Systems nimmt mit dem seit 2008 bewährten ZytoDot® 2C ERBB2/CEN17-System regelmäßig mit

Erfolg an Ringversuchen (QuIP und NordiQC) zur HER2 In-situ-Hybridisierung teil.

► **Formate**

Die ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Sonde ist im CE/IVD-klassifizierten Kit komplett mit allen nötigen Reagenzien für die Gewebepreparation und

Detektion erhältlich (Bestell-Nr.: C-3022-10/-40). Die Sonde und passende Detektionskomponenten sind zudem auch einzeln zu beziehen.

► **Ihre Vorteile mit dem ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 CISH System**

- Evaluiert in Ringversuchen, bewährt in zahlreichen Instituten seit 2008
- Kontraststarke, permanente rote und grüne Signale
- Lichtmikroskopische Auswertung, kein kostspieliges Fluoreszenzmikroskop nötig
- Gleichzeitige Beurteilung der Gewebemorphologie und der CISH-Signale
- Einfache Archivierung der Schnitte
- Standardisierte Komplett-Kits erhältlich (CE/IVD)
- Herstellung und Qualitätskontrolle in Deutschland

► **Literatur**

- [1] Mayr D *et al.* Chromogenic *in situ* hybridization for Her-2/neu-oncogene in breast cancer: comparison of a new dual-colour chromogenic *in situ* hybridization with immunohistochemistry and fluorescence *in situ* hybridization. *Histopathol* 55:716-723, 2009
- [2] Hwang CC *et al.* Dual-colour chromogenic *in situ* hybridization is a potential alternative to fluorescence *in situ* hybridization in HER2 testing. *Histopathol* 59:984-992, 2011
- [3] Wachter DL *et al.* Prognostic molecular markers and neoadjuvant therapy response in anthracycline-treated breast cancer patients. *Arch Gynecol Obstet* 287:337-344, 2013
- [4] Wolff AC *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. *J Clin Oncol* 36:2105-2122, 2018
- [5] Martin V *et al.* Implementation of the 2018 Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Guideline by American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Will Reduce False-Positive Tests. *Arch Pathol Lab Med* 143:411-412, 2019
- [6] Murray C *et al.* Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing by Fluorescent *In Situ* Hybridization: Positive or Negative? American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guidelines 2007, 2013, and 2018. *Arch Pathol Lab Med* 143:412-413, 2019
- [7] Geiersbach KB *et al.* HER2 Testing for Breast Cancer in the Genomics Laboratory: A Sea Change for Fluorescence *In Situ* Hybridization. *Arch Pathol Lab Med* 145:883-886, 2021

In-situ-Hybridisierung

ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Sonde



► Produktinformationen

ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 CISH Komplett-Kits (Sonde + Detektion)

Beschreibung	CE/IVD	Menge	Bestell-Nr.
ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit Incl. Heat Pretreatment Solution EDTA; Pepsin Solution; ERBB2/CEN 17 Probe; Wash Buffer SSC; 20x Wash Buffer TBS; Anti-Dig/DNP-Mix; HRP/AP-Polymer-Mix; AP-Red Solution A; AP-Red Solution B; HRP-Green Solution A; HRP-Green Solution B; Nuclear Blue Solution; Mounting Solution (alcoholic)	✓	10 Tests	C-3022-10
		40 Tests	C-3022-40

ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Sonde

Beschreibung	CE/IVD	Menge	Bestell-Nr.
ZytoDot® 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	✓	100 µl (10 Tests)	C-3032-100
		400 µl (40 Tests)	C-3032-400

ZytoDot® 2C CISH Implementation Kit für Gewebepreparation und Sondendetektion

Beschreibung	CE/IVD	Menge	Bestell-Nr.
ZytoDot® 2C CISH Implementation Kit Heat Pretreatment Solution EDTA; Pepsin Solution; Wash Buffer SSC; 20x Wash Buffer TBS; Anti-Dig/DNP-Mix; HRP/AP-Polymer-Mix; AP-Red Solution A; AP-Red Solution B; HRP-Green Solution A; HRP-Green Solution B; Nuclear Blue Solution; Mounting Solution (alcoholic)	✓	10 Tests	C-3044-10
		40 Tests	C-3044-40

Sämtliche Preise zu unseren Produkten finden Sie auf www.zytomed-systems.de

ZytoLight®, ZytoDot® und ZytoFast® sind eingetragene Marken unserer Schwesterfirma ZytoVision GmbH, Bremerhaven.