



## ERBB2 Control Slide Set

REF E-4007-2

 2 Objektträger

Für den Nachweis von Amplifikationen des ERBB2-Gens mittels chromogener *in-situ*-Hybridisierung (CISH)



IVD

In-vitro-Diagnostikum  
gemäß EU Richtlinie 98/79/EC

### 1. Verwendungszweck

Das ERBB2 Control Slide Set ist als Positivkontrolle für den qualitativen Nachweis von Amplifikationen des ERBB2-Gens mittels chromogener *in-situ*-Hybridisierung (CISH) bestimmt. Das ERBB2 Control Slide Set ist für die Verwendung in Kombination mit den ZytoDot CISH ERBB2 Sonden und den ZytoDot CISH Implementation Kits (Prod. Nr. C-3018-40; C-3044-10/-40) vorgesehen.

Die Interpretation der Ergebnisse muss im Kontext mit der klinischen Anamnese unter Berücksichtigung weiterer klinischer und pathologischer Daten des Patienten durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen.

### 2. Klinische Relevanz

Das ERBB2-Gen (erb-b2 receptor tyrosine kinase 2, aka HER2 und NEU) ist in der chromosomalen Region 17q12 lokalisiert und codiert p185, das als zellulärer Rezeptor für Wachstumsfaktoren fungiert. Die Amplifikation des Proto-Onkogens ERBB2, welche bei etwa 20% aller Mammakarzinome beobachtet wurde, wird mit einer schlechten Prognose der Erkrankung korreliert. Ähnliche Ergebnisse wurden für eine Vielzahl anderer bösartiger Neoplasien gezeigt, z.B. Ovarialkarzinome, Magenkarzinome und Karzinome der Speicheldrüse.

### 3. Prinzip der Methode

Die chromogene *in-situ*-Hybridisierung (CISH) erlaubt den Nachweis und die Visualisierung von spezifischen Nukleinsäuresequenzen in Zellpräparationen. Haptenmarkierte Nukleotid-Fragmente, sogenannte CISH-Sonden, und deren komplementäre Zielsequenzen in den Präparationen werden co-denaturiert und können anschließend während der Hybridisierung binden. Danach werden unspezifische und ungebundene Sondenfragmente durch Stringenzwaschschritte entfernt. Die Duplex-Bildung der markierten Sonde wird mittels primärer (nicht markierter) Antikörper visualisiert, welche von sekundären polymerisierten Enzym-konjugierten Antikörpern detektiert werden. Die enzymatische Reaktion mit den chromogenen Substraten führt zur Bildung von Farbpräzipitaten. Nach der Gegenfärbung des Zellkerns mit einer Zellkernfärbung können die hybridisierten Sondenfragmente mit einem Lichtmikroskop visualisiert werden.

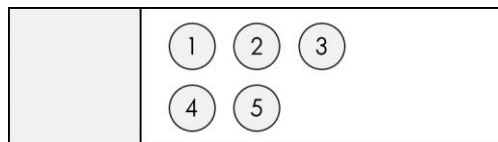
### 4. Enthaltene Komponenten

Das ERBB2 Control Slide Set besteht aus vier verschiedenen Säugetierzelllinien, welche unterschiedliche Level der ERBB2-Genamplifikation aufweisen, sowie einem Gewebe (Herzmuskulatur):

- Fixierung in 10% neutral gepuffertem Formalin für 24h bei pH 7,0
- Einbettung in rot-gefärbten Paraffin
- Mikrotomschnitte von 5 µm Dicke
- Positiv geladene Objektträger verwendet
- Vorbehandelt für 30 min bei 58°C

#### Beschreibung des Objektträgers:

Positionierung der Präparate auf dem Objektträger:



- 1 Keine ERBB2 Amplifikation, 1-2 Genkopien pro Nukleus
- 2 Low-Level ERBB2 Amplifikation, 3-6 Genkopien pro Nukleus
- 3 High-Level ERBB2 Amplifikation, large cluster pro Nukleus
- 4 Keine ERBB2 Amplifikation, 1-2 Genkopien pro Nukleus
- 5 Keine ERBB2 Signale

Das ERBB2 Control Slide Set ist verfügbar in einer Größe:

- E-4007-2: 2 Objektträger

### 5. Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

- ZytoDot CISH ERBB2 Sonde
- ZytoDot CISH Implementation Kits (Prod. No. C-3018-40; C-3044-10/-40)

ERBB2 Control Slide Set ist für die Verwendung bei ISH-Protokollen mit ZytoVision Sonden und -Kits bestimmt. Für Informationen zu den für die CISH-Anwendungen benötigten Materialien bitte die Gebrauchsanweisungen der jeweiligen ZytoVision Sonde und des Implementation Kits beachten.

### 6. Lagerung und Handhabung

Bei 2-8°C lagern. Unmittelbar nach Gebrauch wieder unter Lagerbedingungen aufbewahren. Keine Reagenzien nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums verwenden. Das Produkt ist bei sachgemäßer Handhabung bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

### 7. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Gebrauchsanweisung vor der Verwendung lesen!
- Objektträger nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden!
- Die Objektträger nicht wiederverwenden!
- Obwohl die Objektträger nach der Fixierung nicht infektiös sind, wird dem Benutzer empfohlen, die gleichen Sicherheitsvorkehrungen wie beim Umgang mit potenziell infektiösen Erregern zu treffen.
- Jeder direkte Kontakt mit den Reagenzien muss vermieden werden. Entsprechende Schutzmaßnahmen (Verwendung von Einmalhandschuhen, Schutzbrille und Laborbekleidung) sind zu ergreifen!
- Sollten Reagenzien mit der Haut in Kontakt kommen, die betroffenen Stellen sofort mit viel Wasser abspülen!
- Ein Sicherheitsdatenblatt ist auf der Website verfügbar ([www.zytovision.com](http://www.zytovision.com))!
- Kreuzkontaminationen und mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden!

## 8. Einschränkungen

- Für die Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
- Nur für die professionelle Anwendung.
- Die klinische Interpretation jeglicher positiven Färbung bzw. deren Abwesenheit muss im Kontext mit der klinischen Anamnese, Morphologie, anderer histopathologischer Kriterien sowie weiterer diagnostischer Tests erfolgen. Es obliegt der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen, mit CISH Sonden, Reagenzien, Diagnose-Panels und den zur Erstellung von gefärbten Präparaten verwendeten Methoden vertraut zu sein. Die Färbung ist in einem zertifizierten, lizenzierten Labor unter Aufsicht eines Pathologen durchzuführen, der für die Auswertung der Färbepreparate und für die Sicherstellung der Eignung von positiven und negativen Kontrollen verantwortlich ist.
- Die Färbung der Präparate, insbesondere die Signalintensität und die Hintergrundfärbung, ist abhängig von der Behandlung und Prozessierung der Präparate vor der Färbung. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Präparaten oder Flüssigkeiten können Artefakte oder falsche Ergebnisse verursachen. Inkonsistente Ergebnisse können von Variationen bei Fixierungs- und Einbettungsverfahren sowie von inhärenten Unregelmäßigkeiten innerhalb des Präparates resultieren.
- Die Leistung wurde unter Verwendung der in den Gebrauchsanweisungen der jeweiligen ZytoVision Sonde und des Implementation Kits beschriebenen Verfahren validiert. Abweichungen von diesen Verfahren können die Leistung beeinflussen und müssen vom Anwender validiert werden.

## 9. Störsubstanzen

Die Gebrauchsanweisungen der jeweiligen *ZytoDot* CISH ERBB2 Sonde und des Implementation Kits beachten.

## 10. Vorbereitung der Präparate

Die Gebrauchsanweisungen der jeweiligen *ZytoDot* CISH ERBB2 Sonde und des Implementation Kits beachten.

## 11. Vorbereitung der Reagenzien

1. Das Etikett vom ERBB2 Control Slide entfernen und den Objektträger mit einem Bleistift beschriften.
2. Zur Kontrolle auf dem gleichen Objektträger das zu untersuchende Gewebe auf den Objektträger aufbringen.
3. Die Präparate bei 60°C für mindestens 2 h bis zu 16 h fixieren.

## 12. Durchführung

Die Durchführung wie in der Gebrauchsanweisung des entsprechenden *ZytoDot* CISH Implementation Kits beschrieben ausführen.

## 13. Interpretation der Ergebnisse

Bei der Verwendung der geeigneten *ZytoDot* CISH ERBB2 Probe und Implementation Kit, erscheinen Hybridisierungssignale in den verschiedenen Proben des ERBB2 Control Slide.

**Positive Färbung:** In Interphasen von normalen Zellen oder Zellen ohne eine Amplifikation der ERBB2-Genregion (Proben 1; 4), erscheinen zwei distinkte punktförmige Signale (siehe Abb. 1).

In Zellen mit einer Amplifikation der ERBB2-Genregion (Proben 2; 3), können eine erhöhte Anzahl an Signalen oder Signalcluster beobachtet werden (siehe Abb. 1).

**Negative Färbung:** In Zellen ohne ERBB2-Genregion erscheinen keine Signale (Probe 5).

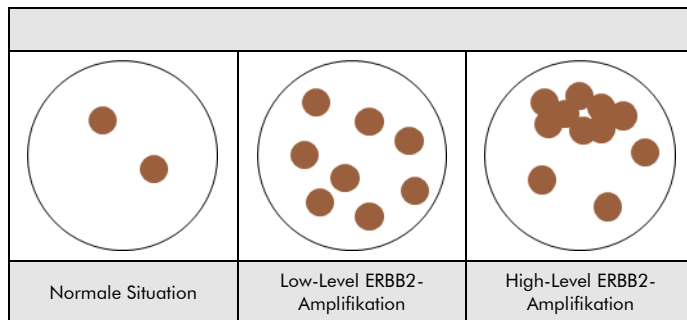


Abb. 1: Zu erwartende Ergebnisse in normalen und aberranten Zellkernen

## Empfohlene Qualitätskontrollverfahren

Die Gebrauchsanweisung der jeweiligen *ZytoDot* CISH ERBB2 Sonde beachten.

## 14. Leistungsmerkmale

Die Gebrauchsanweisung der jeweiligen *ZytoDot* CISH ERBB2 Sonde beachten.

## 15. Entsorgung

Die Entsorgung der Reagenzien muss in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften erfolgen.

## 16. Fehlerbehebung

Jede Abweichung von der Gebrauchsanweisung kann zu schwachen bis gar keinen Färbungen führen. Die Gebrauchsanweisungen der jeweiligen *ZytoVision* Sonde und des Kits beachten.

## 17. Literatur

- Ataseven B, et al. (2012) *Breast Care* 7: 465-70.
- Bhargava R, et al. (2005) *Am J Clin Pathol* 123: 237-43.
- Boissière-Michot F, et al. (2013) *Pathol Oncol Res* 19: 41-53.
- Brunello E, et al. (2012) *Histopathology* 60: 482-8.
- Brunner K, et al. (2010) *Anal Quant Cytol Histol* 32: 78-89.
- Coussens L, et al. (1985) *Science* 230: 1132-9.
- Cruz-Reyes C & Gamboa-Dominguez A (2013) *Int J Surg Pathol* 21: 240-6.
- Di Palma S, et al. (2008) *J Clin Pathol* 61: 757-60.
- Ethl T, et al. (2012) *Hum Pathol* 43: 921-31.
- Fasching P, et al. (2011) *BMC Cancer* 11: 486.
- Haas M, et al. (2011) *Virchows Arch* 458: 403-11.
- Hauser-Kronberger C & Dandachi N (2004) *J Mol Histol* 35: 647-53.
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-92.
- Kounelis S, et al. (2005) *Anticancer Res* 25: 939-46.
- Kuijpers CCHJ, et al. (2013) *PLoS One* 19: 3078-87.
- Lehmann-Che L, et al. (2011) *Br J Cancer* 104: 1739-46.
- Moelans CB, et al. (2011) *Crit Rev Oncol Hematol* 80: 380-92.
- Mori N, et al. (2010) *Br J Cancer* 103: 889-98.
- Nie X, et al. (2013) *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 33: 379-84.
- Oikawa M, et al. (2013) *J Oral Pathol Med* 42: 424-34.
- Oliveira-Costa JP, et al. (2011) *Diagn Pathol* 6: 73.
- Shim BY, et al. (2009) *Asia Pac J Clin Oncol* 5: 232-41.
- Tsukamoto T, et al. (1991) *Int J Dev Biol* 35: 25-32.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4.

Unsere Experten stehen Ihnen für Ihre Fragen zur Verfügung.  
Bitte kontaktieren Sie [helptech@zytovision.com](mailto:helptech@zytovision.com)



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/Deutschland  
Telefon: +49 471 4832-300  
Fax: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
Email: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

### Warenzeichen:

ZytoVision® und ZytoDot® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.