

Taotlus 1451 (HER2 geeni amplifikatsioon määramine SISH meetodil)

Küsimus:

Taotluses on jäänud käsitlemata väga oluline punkt, miks on vajalik HER2-ekspressiooni määramine RV patsientidel. Kirjandusest on teada, et HER2 positiivne RV on sageli oluliselt agressiivsema kuluga ning kui kasutada spetsiaalselt HER2 suunatud ravi, siis on prognoos oluliselt parem. Palume esitada vastavad viited ja selgitused.

Vastus:

HER2 spetsiifiline ravi rinnavähiga patsientidel

Herceptini (trastuzumab) kasutatakse rinna- ja maovähkide raviks juhul kui kasvajakudede pinnal on suur kogus ainulaadset valku, mida nimetatakse inimese epidermaalse kasvufaktori retseptor-2 valguks (HER2). HER2 suurenenud koguses esinemine kasvajakude pinnal muudab need kiiresti paljunevateks. HER2 valgu suurenenud esinemine kasvajakude pinnal on tingitud kromosoom 17-s oleva HER2 geeni amplifikatsioonist (kooptide arvu suurenemine), mida saab määrata HER2-SISH meetodikat kasutades.

Rinnavähk, millel on oma rakkudes HER2 suures koguses, on tuntud kui HER2-positiivne rinnavähk. Seda tüüpi rinnavähk on eriti agressiivne. See moodustab ligikaudu 15-25 protsenti rinnavähiga naisest ja nõuab erilist ja kohest tähelepanu, kuna tuumorid on kiiresti kasvavad ja taastekke tõenäosus on suurem.

Herceptini kasutatakse HER2-positiivse rinnanäärmevähi raviks pärast operatsiooni, kemoteraapiat ja kiiritusravi (vajadusel). Herceptini võib manustada ka koos keemiaravi ravimitega dotsetakseel ja karboplatiiniga. Inimestele, kes on juba saanud doksorubitsiini ja tsüklofosfamidi kemoteraapiat, võib seda manustada koos paklitakseeli või dotsetakseeli kombinatsiooniga.

Herceptini ravi rakendatakse ka teiste kehaosade (metastaatiline rinnanäärmevähk), maovähk, või metastaatiline maovähk juhtumite korral. HER2 positiivne maovähk moodustab 6 kuni 40 protsenti juhtumitest.

Herceptin sisaldab toimeainet trastuzumabi, mis on teatud tüüpi ravim, mida nimetatakse humaniseeritud monoklonaalseks antikehaks.

Trastuzumab toimib sarnaselt meie immuunsüsteemi looduslike antikehadega. Meie looduslikud antikehad tunnevad välismaiseid sissetungijad ja seostavad neid, aidates meie immuunsüsteemil rünnata neid ja kaitsta meid nakkuste eest. Monoklonaalsed antikehad, nagu trastuzumab, valmistatakse laboratooriumides ja neid saab kasutada vähirakkude ründamiseks sarnasel viisil. Trastuzumab seob HER2 valku rinna- ja mao vähirakkudes. See peatab vähirakkude kasvumise ja paljunemise ning samuti käivitab immuunsüsteemi vähirakkude ründamise ja tapmise.

Uuringud on näidanud, et patsiendid, kes on saanud adjuvantset Herceptin ravi koos keemiaraviga, on vähi retsidiivi tõenäosus 36% väiksem võrreldes ainult keemiaravi saanutega. Tõenäosus surra rinnavähki on 40% väiksem. Herceptin ravi saanutele on 5 korda suurem tõenäosus südameprobleemide tekkeks.

35-kuulise jälgimisperioodi jooksul leiti, et immuunohistokeemiliselt HER2 3+ metastaatilise rinnavähi puhul on kombineeritud ravi saanute üldine elulemus 45% suurem kui ainult keemiaravi saanutele.

Kasutatud allikad

1. Baselga J. Herceptin alone or in combination with chemotherapy in the treatment of HER2-positive metastatic breast cancer: pivotal trials. *Oncology*. 2001;61 Suppl 2:14-21. doi: 10.1159/000055397. PMID: 11694783.
2. Moja L, Tagliabue L, Balduzzi S, et al. . Trastuzumab containing regimens for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;2012:CD006243
3. Gianni L, Dafni U, Gelber RD, Azambuja E, Muehlbauer S, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, Baselga J, Jackisch C, Cameron D, Mano M, Pedrini JL, Veronesi A, Mendiola C, Pluzanska A, Semiglazov V, Vrdoljak E, Eckart MJ, Shen Z, Skiadopoulos G, Procter M, Pritchard KI, Piccart-Gebhart MJ, Bell R; Herceptin Adjuvant (HERA) Trial Study Team. Treatment with trastuzumab for 1 year after adjuvant chemotherapy in patients with HER2-positive early breast cancer: a 4-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2011 Mar;12(3):236-44. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70033-X. Epub 2011 Feb 25. PMID: 21354370.
4. Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, Feyereislova A, Dowsett M, Goldhirsch A, Untch M, Mariani G, Baselga J, Kaufmann M, Cameron D, Bell R, Bergh J, Coleman R, Wardley A, Harbeck N, Lopez RI, Mallmann P, Gelmon K, Wilcken N, Wist E, Sánchez Rovira P, Piccart-Gebhart MJ; HERA study team. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007 Jan 6;369(9555):29-36. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60028-2. PMID: 17208639.

Küsimus:

Puudub erinevate HER2 geeni amplifikatsiooni määramise meetodite võrdlus kirjandustest. Vajalik oleks juba Eestis kasutusel oleva ja Eesti Haigekassa teenuste loetelusse lisatud fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) ning teiste teadaolevate meetodite (SISH, CISH) võrdlus. Võrdlus peaks sisaldama eelkõige erinevate meetodite edukuse (vale-positiivsuse ja vale-negatiivsuse määr), ajalise mahu ja kulutõhususe andmeid. Palume täiendada taotlust vastava teaduspõhise võrdlusega.

Vastus:

HER2 geeni staatuse määramisel kasutatavate meetodite võrdlus

Kirjanduse andmetel kasutatakse HER2 geeni staatuse määramiseks enamasti immunohistokeemiat ja *in situ* hübridisatsioonil põhinevaid meetodeid, kusjuures kuldseks standardiks on siiani olnud fluorestsents *in situ* hübridisatsioon (FISH). Üha rohkem populaarsust kogub ka valgusmikroskoobi abil analüüsivad *in situ* meetodeid nagu hõbeda *in situ* hübridisatsioon (SISH) ja kromogeeni *in situ* hübridisatsioon (CISH) või need kaks kokku panduna – *dual in situ* hübridisatsiooni meetod (Dual ISH).¹

Üks alternatiiv FISH-ile võib olla ka veel reaalaraja polümeraasiahelreaktsiooni meetod (qPCR), kuid formaliinis fikseeritud parafiinis olevate kudede puhul on tihti RNA materjalise liiga degradeerunud geeni staatuse detekteerimiseks.²

Kirjanduse andmetel on FISH-i ja SISH/CISH-i võrdlusel toodud SISH/CISH-i eelisena välja asjaolu, et signaali saab detekteerida valgusmikroskoobiga, seega ei ole vaja eraldi tehnilisi seadmeid fluorestsentsi detekteerimiseks. Samuti ei hääbu SISH/CISH-i signaal võrreldes FISH-i meetodiga.¹

Siinkohal on toodud välja FISH-i meetodi võrdlus teiste alternatiivsete meetoditega nagu SISH, CISH, IHC (immunohistokeemia) ja qPCR.

Tabel 1. Alternatiivsete meetodite võrdlus FISH-iga³

Meetod	Populatsioon	Kokkulangevus	Tundlikkus	Spetsiifilisus	Positiivne predikatiivne väärtus	Negatiivne predikatiivne väärtus
IHC	N=766	96%	91%	98%	95%	96%
SISH	N=498	97%	99%	97%	93%	99%

CISH	N=108	98%	100%	97%	94%	100%
qPCR	N=699	95%	89%	97%	92%	95%

Tabel 2. Alternatiivsete meetodite võrdlus FISH-iga⁴

HER2 staatuse määramise meetod	Mittekokkulangevus	Tundlikkus	Spetsiifilisus		
IHC	2%	99%	97%		
CISH	2%	99%	98%		
SISH	3%	96%	98%		
HER2 staatuse määramise meetod	Positiivne predikatiivne väärtus	Negatiivne predikatiivne väärtus	Valepositiivsus	Valenegatiivsus	
IHC	98%	99%	2%	1%	
CISH	99%	98%	2%	2%	
SISH	99%	95%	1%	5%	

Kirjanduse andmetel saab järeldada, et FISH-i asemel saab kasutada SISH ja/või CISH meetodit alternatiivse ja samaväärse meetodina.

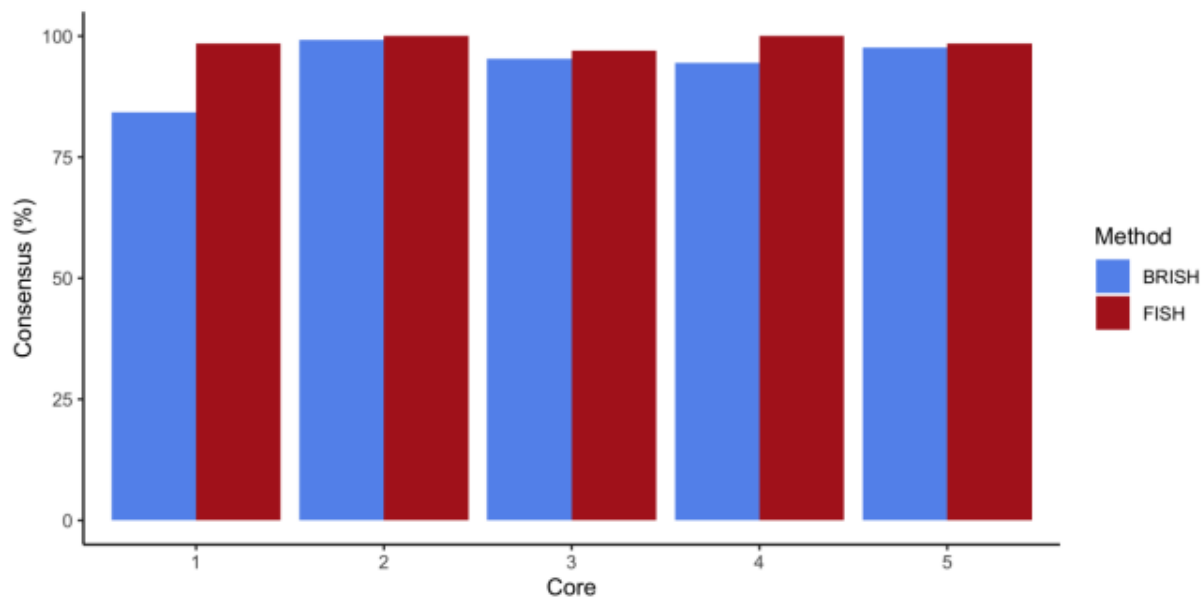
HER2 NordiQC aruanne (Run H19 2021) – meetodite võrdlus

NordiQC aruandes toodud tulemustest selgub, et uue generatsiooni Ventana HER2 Dual ISH meetod andis paremad tulemused võrreldes vana versiooniga. Uue generatsiooni Ventana HER2 Dual ISH meetod oli selles kvaliteedianalüüsis kasutatud meetoditest kõige edukam (75% tulemustest optimaalsed/head).⁵

Tabel 3. Ventana HER2 dual ISH vana ja uue generatsiooni meetodite võrdlus NordiQC Run H19 2021 aruande andmetel⁵

Kahevärviline HER2 süsteem	N (laborite arv)	Optimaalne	Hea	Piiripealne	Halb	Piisav (optimaalne+hea)	Optimaalsete tulemuste osakaal
INFORM™ HER2 Dual ISH (800-4422/780-4422) (vana)	22	8	6	6	2	64%	36%
VENTANA HER2 Dual ISH (800-6042)(uus)	94	43	27	19	5	75%	46%

Käesoleva NordiQC kvaliteedianalüüsis oli laboritel ka võimalus osaleda HER2 geeni staatuse määramisel FISH meetodiga. On toodud välja, et võrreldes NordiQC enda tulemustega, oli FISH-i ja Dual ISH-i meetodi konsensused üksteisele lähedased (joonis 1)



Joonis 1. NordiQC HER2 ISH run H19. Konsensus vastavalt meetodile (BRISH – *Brightfield in situ hybridization* (Ventana HER2 Dual ISH jne), FISH – *fluorescence in situ hybridization*). Kvaliteedianalüüsis kasutati 5 erinevat rinnakartsinoomi kude (*core 1-5*).⁵

Uue generatsiooni SISH reaktiivide meetodika kirjeldus⁶

Taotluse esitamise ajal ei olnud veel turul pakkuda uue generatsiooni SISH reaktiive, mida täna on võimalik ka meie turul soetada. Käesolevas dokumendis toodud info analüüsi tundlikkuse ja spetsiifilisuse osas⁶ ja NordiQC välise kontrolli tulemused⁵, kirjeldavad viimase generatsiooni analüüsi tulemusi ning ka kulutõhususe hindamisel on arvesse võetud uute reaktiivide maksumusi.

SISH uuringu määramise otsustab raviarst või patoloog vastavalt patsiendi histoloogilisele uuringule ja kliinilistele andmetele. SISH määratakse hõbeda *in-situ* hübridiseerimise meetodil parafiinlõigul. Tellimus edastatakse laborisse. Patoloogi määratud parafiinplokist lõigatakse laboris mikrotoomiga koelõik preparaadiklaasile, millele on juba eelnevalt või samaaegselt lõigatud koelõik kontrollplokist. Valmistatud klaasid värvitakse immunohistokeemia automaatsel värvimisseadmel Ventana Benchmark ULTRA (või XT, GX). Selleks asetatakse eelnevalt seadmesse kõik vajalikud lahused ja reaktiivid:

1. VENTANA Silver ISH DNP tuvastuskomplekt
2. VENTANA Red ISH DIG tuvastuskomplekt
3. HybReady Solution
4. eeltötlus ensüüm ISH Protease 3
5. taustvärvingu reaktiiv Hematoxylin II
6. taustvärvingu reaktiivid Bluing Reagent
7. pesupuhver Reaction Buffer Concentrate (10X)
8. naatriumkloriidi naatriumtsitraadi puhver SSC (10X)
9. deparafineerimise reagent EZ Prep Concentrate (10X)
10. ultraView Silver Wash II (Pre-dilute)
11. eeltötluslahus ULTRA CC1 (Pre-dilute)
12. eeltötluslahus ULTRA CC2 (Pre-dilute)
13. reaktsioonikambri moodustav õli ULTRA LCS (Pre-dilute)
14. The VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteil

Pesupuhver, SSC lahus ja deparafineerimislahus valmistatakse kontsentratsioonist laboris kohapeal 20L kanistritesse, millest täidetakse seadme vastavaid kanistreid. Muud reaktiivid on valmislahused. Seadmes on ka spetsiaalsed Silver Wash II, eeltötluslahuse ja reaktsioonikambri õli kanistrid, mida on vajalik

eelnevalt täita. Ülejäänud reaktiivid on originaalpudelites, mis asetatakse seadme vastavale karussellile. Töö alustamiseks värvimisautomaadil sisestab bioanalüütik tellimuse info seadme programmi, prindib ja kleebib klaasidele vastava tähistusega kleepsud ning asetab klaasid seadme pardale. Seade skaneerib kleepsudel oleva info ning alustab värvimist vastavalt kleebise triipkoodil kindlaksmääratud protokollile.

The VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteil on optimaalselt koostatud kasutamiseks koos VENTANA Silver ISH DNP tuvastuskomplekti, VENTANA Red ISH DIG tuvastuskomplekti ja lisareaktiividega Ventana automatiseeritud värviseadmetel. Tuvastuskomplekt sisaldab primaarset antikeha ja ensüümiga märgistatud sekundaarset antikeha, mis on konjugeeritud mädarõika peroksidaasiga (HRP) või leeliselise fosfataasiga (AP), mida kasutatakse kromogeense ensüümina.

Dual in-situ hybridization (Dual ISH) värvimisprotsessi käigus hübridiseeritakse DNP ja DIG märgistatud sondid nende vastavate spetsiifiliste märklaud-DNA järjestustega rakutuumades.

Kõigepealt tuvastatakse DNP-märgistatud HER2 sond, kasutades VENTANA Silver ISH (SISH) DNP-tuvastuskomplekti, mis sisaldab järgmisi reaktiive: hiire anti-DNP-vastane antikeha, mis on märgistatud hüdroksükinoxaliiniga (HQ), hiire sekundaarne antikeha HQ-ga, mis on konjugeeritud mädarõika peroksüdaas (HRP), kromogeen A (hõbe A), kromogeen B (hõbe B) ja kromogeen C (hõbe C). Pärast inkubeerimist HQ-märgistatud hiire anti-DNP-vastase antikeha ja seejärel hiire anti-HQ HRP-sekundaarse antikeha konjugaadiga toimub SISH-i reaktsioon. Lühidalt kirjeldades juhib seda reaktsiooni kromogeenide A (hõbeatsetaat), B (hüdrokinoon) ja C (H₂O₂) järjestikune lisamine. Siin redutseeritakse hüdrokinooni abil hõbeioonid (Ag⁺) metallhõbeda aatomiteks (Ag⁰). Seda reaktsiooni soodustab HRP substraat, vesinikperoksiid (kromogeen C). Hõbedane sade ladestub tuumadesse ja HER2 geeni üks koopia visualiseeritakse musta punktina.

Pärast HER2 SISH tuvastamist tuvastatakse DIG-märgistatud 17. kromosoomi sond VENTANA Red ISH DIG tuvastuskomplektiga. See komplekt sisaldab järgmisi reaktiive: hiire DIG-vastane primaarne antikeha, mis on märgistatud nitropürasooliga (NP), hiire NP-vastane sekundaarne antikeha, mis on konjugeeritud leeliselise fosfataasiga (AP), pH suurendaja, naftool ja kiire punane. Pärast SISH-signaali arengut inkubeeritakse slaidi NP-märgistatud hiire anti-DIG-vastase primaarse antikehaga, mis seondub 17. kromosoomi sondis oleva DIG-hapteniga. Hapteeni vastane primaarne antikeha tuvastati AP ensüümiga konjugeeritud hiire anti-NP abil. Objektiklaasi inkubeeritakse pH suurendaja lahusega, mis tagab AP ensüümi optimaalseks toimimiseks sobivad soolakomponendid ja kontsentratsioonid ning puhverdatud pH. Järgmisena kantakse naftoolfosfaat, mis toimib substraadina AP ensüümi jaoks (AP defosforüleerib naftooli). Järgmine slaidile lisatud Fast Red kombineerub defosforüülitud naftooliga, moodustades punase sade, mida valguse mikroskoopia abil saab hõlpsasti visualiseerida. Seejärel värvitakse proov valgusmikroskoopia abil tõlgendamiseks Hematoxylin II-ga. Värvimisprotokoll koosneb paljudest etappidest, milles reaktiive inkubeeritakse etteantud aja jooksul kindlatel temperatuuridel. Iga inkubatsioonietapi lõpus peseb BenchMark IHC / ISH instrument preparaadiklaasi seondumata materjali eemaldamiseks ja lisab preparaadiklaasile reaktsioonikambri moodustava õli ULTRA LCS, mis minimeerib reagentide aurustumist preparaadiklaasilt.

Värvimisprotseduuri lõppedes võtab bioanalüütik klaasid seadmest välja, eemaldab neilt nõrga detergendiflahusega õlikihi, dehüdreerib kasvavas piiritusreas ning sulundab klaasid. Viimased kaks etappi võivad olla teostatud ka eraldiseisvas seadmes.

Patoloog tõlgendab tulemusi valgusmikroskoobi abil kasutades 20x, 40x ja / või 60x suurendusega objektiive ning lähtudes juhistest, mis on toodud dokumendis „VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Interpretation Guide for Breast and Gastric Carcinoma“.

Metoodika võrdluskatsete tulemused⁶

1. VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteil BenchMark ULTRA instrumendil vs. Abbott / Vysis PathVysion HER-2 DNA sondikomplekt

Selleks, et hinnata invasiivses rinnanäärmevähkide HER2 geeni staatuse VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteiliga määramise kliinilist tundlikkust ja spetsiifilisust, viidi läbi meetodite võrdlusuuring, kus osales kolm kesk laborit. Võrdlustestina kasutati Abbott / Vysis PathVysion HER-2 FISH komplekti.

Kolme labori peale kokku koguti 636 invasiivse rinnavähi juhtumit, mida potentsiaalselt plaaniti kaasata uuringusse. Valikusse kaasamise kriteerium oli varasemalt immunohistokeemiliselt (IHK) määratud HER2 / neu valgu ekspressiooni tulemus. Täiendavalt lisas uuringu sponsor valimisse 133 juhtumit.

Vältimaks kallutatust proovide hindamisel, ei olnud VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteilianalüüsi ja PathVysion HER-2 FISH võrdlusanalüüsi läbiviivad kesk laborid teadlikud uuringusse kaasatud juhtumite IHK tulemusest ja neil ei olnud täiendavat informatsiooni patsientide haigusjuhtumi kohta. Üks kesk labor teostas IHK värvimise kõikidele proovidele, kasutades PATHWAY HER2 / neu (4B5) antikeha. FISH ja VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteili testi värvimise tulemused loendati, loendades igas proovis vähemalt 20 tuuma. Tulemused esitati järgmiselt: HER2 / Chr 17 suhe $\geq 2,0$, amplifitseerituna; HER2 / Chr 17 $< 2,0$ võimendamata kujul. 678 juhtumist, mis olid värvitud nii FISH kui ka VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteiliga, olid mõlema analüüsiga loendatavad 605 proovi, mis kaasati analüüsi.

Esmases analüüsis võrreldi positiivsete ja negatiivsete tulemuste/hinnangute protsentuaalset kokkulangevust, et näidata VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteili ja PathVysion HER-2 FISH testide võrdväärset edukust. Andmed iga testi amplifitseeritud ja amplifitseerimata oleku kohta on esitatud allpool tabelis (ühendades kõigi laborite andmed). Tabelis on toodud ka positiivsete ja negatiivsete tulemuste kokkulangevusemäär protsentides.

Table 4. Agreement between VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail and Abbott/Vysis PathVysion HER-2 DNA Probe Kit in a cohort of human breast carcinoma specimens.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Result	PathVysion HER-2 FISH Result		
	Amplified	Non-Amplified	Total
Amplified	270	12	282
Non-Amplified	32	291	323
Total	302	303	605
	n/N	% (95% Score CI)	
Percent Positive Agreement	270/302	89.4 (85.4, 92.4)	
Percent Negative Agreement	291/303	96.0 (93.2, 97.7)	

Table 5. Summary of negative, positive, and overall agreement rates for VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail and Abbott/Vysis PathVysion HER-2 DNA Probe Kit on human breast carcinoma specimens, presented by site.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail vs PathVysion HER-2 FISH	Percent Positive Agreement	Percent Negative Agreement	Percent Overall Agreement
Site 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)
Site 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)
Site 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)

Need andmed näitavad suurepäraselt kokkulangevust VENTANA HER2 Dual ISH DNA Sondikokteili ja PathVysion HER-2 FISH komplekt vahel.

Lisaks analüüsiti mõlema ISH meetodika kokkulangevust proovide IHK Her2 valgu ekspressiooni määramise tulemusega. Meetodite võrdlemisel lähtuti FDA hindamise juhistest, kus 2+/3+ Her2 IHK tulemused loeti positiivseks Her2 üle-ekspressiooni osas.

Table 6. IHC on the BenchMark ULTRA instrument vs. FISH Comparison per FDA Guidance: Pooled Data from All Sites.

		PathVysion HER-2 FISH Result		
		Amplified	Non-Amplified	Total
PATHWAY HER2/neu (4B5) Results	Positive (2+/3+ cases)	277	63	340
	Negative (0/1+)	27	238	265
	Total	304	301	605
		n/N	% (95% Score CI)	
Percent Positive Agreement		277/304	91.1 (87.4, 93.8)	

Table 7. IHC on the BenchMark ULTRA instrument vs. VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail assay Comparison per FDA Guidance: Pooled Data from All Sites.

		VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Result		
		Amplified	Non-Amplified	Total
PATHWAY HER2/neu (4B5) Results	Positive (2+/3+ cases)	248	78	326
	Negative (0/1+)	18	253	271
	Total	266	331	597
		n/N	% (95% Score CI)	
Percent Positive Agreement		248/266	93.2 (89.6, 95.7)	

2. VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteil BenchMark ULTRA instrumendil vs. Dako HER2 IQFISH pharmDx™ Kit komplekt

Selleks, et hinnata maovähi HER2 geeni staatuse VENTANA HER2 Dual ISH DNA sondikokteiliga määramise kliinilist tundlikkust ja spetsiifilisust, viidi läbi meetodite võrdlusuuring Dako HER2 IQFISH pharmDx™ Kit komplektiga.

Table 8. Agreement between VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail and Dako HER2 IQFISH pharmDx™ assay in a cohort of human gastric carcinoma specimens.

VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Amplification Status	Dako HER2 IQFISH pharmDx™ assay Amplification Status	
	Amp	Non-Amp
Amp	49	8
Non-Amp	5	84

Table 9. Summary of negative, positive, and overall agreement rates for VENTANA HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail and Dako HER2 IQFISH pharmDx™ on human gastric carcinoma specimens.

	Negative Agreement Rate		Positive Agreement Rate		Overall Agreement Rate	
	Raw Data / # of Cases	Percent (95% Score CI)	Raw Data / # of Cases	Percent (95% Score CI)	Raw Data / # of Cases	Percent (95% Score 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)

Kulutõhususe hindamine

Käesoleva avalduse eesmärgiks on võimaldada kasutada alternatiivseid meetodeid täna haigekassa loetelus olevale Her2 FISH metoodikale (Her2 FISH analüüs rinnakoest või maokoest, kood: 66635, Maksumus: 468,12 EUR).

Alternatiivina FISH metoodikale on võimalik kasutada ka hõbeda *in-situ* hübridiseerimise analüüsi (SISH, *Silver in-situ hybridization*), mille kasutamisel on mitmeid eeliseid võrreldes praegu loetelus kajastuva Her2 FISH analüüsiga.

SISH meetodi puhul on võimalik protsess täielikult automatiseerida laborites kasutusel olevatel immunohistokeemia seadmetel ning ei vaja enne igat analüüsi teostamise eelnevat reaktiivide ettevalmistust⁶ erinevalt FISH metoodikast. Proovimaterjali morfoloogia on hinnatav samal klaasil ja ei vaja hindamisel kõrvale eraldi hematoksüliin/eosiin värvinguga klaasi, mis muudab hindamise patoloogile mugavaks. Tegemist on valgusmikroskoobi abil hinnatava analüüsiga⁶, mis tähendab, et laboril ei ole vaja teha eraldi investeeringut spetsiaalse fluoreseentsmikroskoobi soetamiseks. Samuti on oluline märkida, et automatiseeritud SISH metoodika võimaldab värvingud teostada ca 8h kestva protokollil alusel (väljavõtte uue sondikokteili protokollil pikkusest võimalik lisada pärast kõnealuse testi juurutamist 2021 august), võrdluseks FISH, mille teostamise aeg võib olla kirjanduse andmetel vahemikus 13-24h.^{7,8}

Lisaks kõikidele eeltoodud eelistele mahub SISH metoodika täna haigekassa loetelus toodud FISH piirmääras toodud 468,12 EUR maksumuse sisse, kusjuures ühe preparaadiklaasi värvimiseks vajalike reaktiivide kogumaksumus on [REDACTED] EUR.

Kasutatud kirjandus

1. Gajaria, P., K. et al. (2020). Dual-color dual-hapten in situ hybridization (D-DISH) – Comparison with fluorescence in situ hybridization (FISH) for HER2/neu testing in breast cancer. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*. Volume 63, issue 2, page 194-199. <https://www.ijpmonline.org/article.asp?issn=0377-4929;year=2020;volume=63;issue=2;spage=194;epage=199;aualast=Gajaria>
2. Tvrđík, D. et al. (2012). Comparison of the IHC, FISH, SISH and qPCR methods for the molecular diagnosis of breast cancer. *Molecular Medicine Reports*. Volume 6, issue 2, page 439-443. <https://www.spandidos-publications.com/mmr/6/2/439#>
3. Jacquemier, J. (2013). SISH/CISH or qPCR as alternative techniques to FISH for determination of HER2 amplification status on breast tumors core needle biopsies: a multicenter experience based on 840 cases. *BMC Cancer*. Volume 13, page 351. <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-13-351#citeas>
4. Arnould, L. et al. (2012). Accuracy of HER2 status determination on breast core-needle biopsies (immunohistochemistry, FISH, CISH and SISH vs FISH). *Modern Pathology*. Volume 25, page 675-682. <https://www.nature.com/articles/modpathol2011201>
5. NordiQC Run H19 2021 HER2 ISH https://www.nordiqc.org/downloads/assessments/150_12.pdf
6. VENTANA HER2 ISH 800-6043 Method Sheet; <https://pim-eservices.roche.com/eLD/api/downloads/b103fce5-e004-eb11-fe90-005056a772fd?countryIsoCode=ee>
7. Faye F. Gao, MD, PhD, David J. et. Al „Bright-Field HER2 Dual In Situ Hybridization (DISH) Assay vs Fluorescence In Situ Hybridization (FISH): Focused Study of Immunohistochemical 2+ Cases). *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 141, Issue 1, January 2014, Pages 102–110 <https://academic.oup.com/ajcp/article/141/1/102/1766654>
8. Dual-color dual-hapten in situ hybridization (D-DISH) – Comparison with fluorescence in situ hybridization (FISH) for HER2/neu testing in breast cancer Gajaria Pooja K, Tambe Sonali, Pai Trupti, Patil Asawari, Desai Sangeeta B, Shet Tanuja M Year : 2020 | Volume: 63 | Issue Number: 2 | Page: 194-199; <https://www.ijpmonline.org/article.asp?issn=0377-4929;year=2020;volume=63;issue=2;spage=194;epage=199;aualast=Gajaria>