



**ZytoLight**

## SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit

REF Z-2020-5  $\Sigma$  5

REF Z-2020-20  $\Sigma$  20

Per il rilevamento qualitativo delle amplificazioni del gene ERBB2 umano e dei satelliti alfa del cromosoma 17 mediante ibridazione *in situ* fluorescente (FISH)

4250380N447S



Dispositivo medico – diagnostico in vitro  
in conformità al Regolamento IVDR (EU) 2017/746

### 1. Scopo previsto

Il ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit è destinata all'individuazione qualitativa di amplificazioni che coinvolgono il gene ERBB2 umano e all'individuazione di satelliti alfa del cromosoma 17 in campioni fissati in formalina e inclusi in paraffina, come il cancro al seno e il cancro della giunzione gastrica/gastroesofagea, mediante ibridazione *in situ* fluorescente (FISH).

Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso professionale. Tutti i test che utilizzano il prodotto devono essere eseguiti da personale qualificato in un laboratorio di anatomia patologica certificato e autorizzato, sotto la supervisione di un patologo/genetista umano.

La sonda deve essere utilizzata come ausilio per la diagnosi differenziale del cancro al seno e della giunzione gastrica/gastroesofagea e le misure terapeutiche non devono essere avviate sulla base del solo risultato del test.

### 2. Principio del metodo

La tecnica di ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) consente la rilevazione e la visualizzazione di sequenze nucleotidiche specifiche in preparazioni cellulari. I frammenti di DNA marcati in modo fluorescente, chiamati sonde FISH, e i loro frammenti di DNA complementare nelle preparazioni sono co-denaturati e riuniti durante l'ibridazione. Successivamente, i frammenti di sonda non specifici e non legati, sono rimossi con lavaggi stringenti. Dopo la controcolorazione del DNA con DAPI, i frammenti di sonda ibridati sono visualizzati utilizzando il microscopio a fluorescenza equipaggiato con filtri specifici per i fluorocromi con cui sono direttamente marcati i frammenti di sonde FISH.

### 3. Reagenti forniti

Il ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit è disponibile in due dimensioni ed è composto da:

Codice	Componenti	Importo		Contenitore
		5	20	
PT1	Heat Pretreatment Solution Citric	150 ml	500 ml	Flacone con tappo a vite (grande)
ES1	Pepsin Solution	1 ml	4 ml	Flacone contagocce, tappo bianco
PL8	ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe	0.05 ml	0.2 ml	Recipiente di reazione, coperchio rosso
WB1	Wash Buffer SSC	210 ml	560 ml	Bottiglia con tappo a vite (grande)
WB2	25x Wash Buffer A	50 ml	2x50 ml	Bottiglia con tappo a vite (media)
MT7	DAPI/DuraTect-Solution	0.2 ml	0.8 ml	Recipiente di reazione, coperchio blu
	Istruzioni per l'uso	1	1	

**Z-2020-5 (5 tests):** I componenti **ES1**, **PL8** e **MT7** sono sufficienti per 5 reazioni. Il componente **WB2** è sufficiente per 5x3 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno. Il componente **PT1** è sufficiente per 2 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno. Il componente **WB1** è sufficiente per 3 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno.

**Z-2020-20 (20 tests):** I componenti **ES1**, **PL8** e **MT7** sono sufficienti per 20 reazioni. Il componente **WB2** è sufficiente per 11x3 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno. Il componente **PT1** è sufficiente per 7 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno. Il componente **WB1** è sufficiente per 8 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno.

La ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8) è composta da:

- Polinucleotidi (~10 ng/ $\mu$ l) marcati con ZyGreen (eccitazione 503 nm/emissione 528 nm), le cui sequenze target mappano in 17q12-q21.1\* (chr17:37,572,531-38,181,308) che ospitano la regione del gene ERBB2 (vedere Fig. 1).
- Polinucleotidi (~1,5 ng/ $\mu$ l) marcati con ZyOrange (eccitazione 547 nm/emissione 572 nm), che mirano a sequenze mappate in 17p11.1-q11.1 specifiche per la regione centromerica del satellite alfa D17Z1 del cromosoma 17.
- Tampone di ibridazione a base di formammide

\*conformemente all'Human Genome Assembly GRCh37/hg19

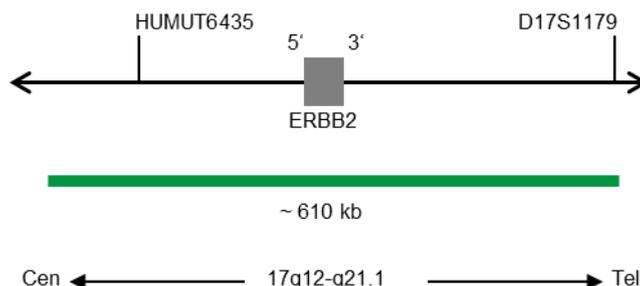


Fig. 1: SPEC ERBB2 Mappa della sonda (non in scala)

### 4. Materiali richiesti ma non forniti

- Campione controllo positivo e negativo
- Vetrini portaoggetto a carica positiva
- Bagno termostato (37°C, 98°C)
- Ibridizzatore o piastra calda
- Ibridizzatore o camera umida in stufa di ibridazione
- Pipette a volume variabile (10  $\mu$ l, 25  $\mu$ l)
- Vaschette di colorazione
- Timer
- Termometro calibrato
- Etanolo o reagente alcolico

- Xilene
- Acqua deionizzata o distillata
- Vetrini coprioggetto (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Colla per vetrini, per esempio Fixogum Rubber Cement (codice prodotto E-4005-50/-125) o simili
- Microscopio a fluorescenza (400-1000x)
- Olio a immersione per fluorescenza
- Set di filtri appropriato

## 5. Conservazione e stoccaggio

Conservare a 2-8°C in posizione verticale. Inoltre, la DAPI/DuraTect-Solution (MT7) deve essere conservata al riparo dalla luce. Riportare alle condizioni di stoccaggio indicate subito dopo l'utilizzo. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata in etichetta. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata in etichetta, se correttamente conservato.

## 6. Avvertenze e precauzioni

- Leggere le istruzioni prima dell'utilizzo.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza!
- Questo prodotto contiene sostanze (in bassa concentrazione e volume) che sono nocive per la salute e potenzialmente infette. Evitare qualsiasi contatto diretto con i reagenti. Prendere le adeguate misure di precauzione (utilizzare i guanti, gli occhiali di protezione e il camice da laboratorio)!
- Segnalare qualsiasi incidente grave relativo al prodotto al produttore e all'autorità competente in conformità alle normative locali.
- Se il reagente dovesse entrare in contatto con la pelle, risciacquare subito abbondantemente!
- La scheda di sicurezza è disponibile su richiesta per usi professionali.
- Non riutilizzare i reagenti.
- Evitare la cross-contaminazione dei campioni, in quanto questo potrebbe portare a risultati sbagliati.
- I campioni non devono essere lasciati asciugare durante le fasi di ibridazione e lavaggio.
- **PL8 e MT7** non deve essere esposta alla luce, in particolare a quella forte, per un periodo di tempo prolungato, vale a dire che tutte le fasi devono essere eseguite, ove possibile, al buio e/o utilizzando contenitori a prova di luce.

### Frasi di pericolo e prudenza di PL8:

Il componente pericoloso è la formammide.



### Pericolo

H351	Sospettato di provocare il cancro.
H360FD	Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto.
H373	Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.
P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P202	Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
P260	Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P308+P313	IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
P405	Conservare sotto chiave.

### Etichettatura speciale di ES1:

EUH208	Contiene pepsina A. Può provocare una reazione allergica.
EUH210	Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

### Frasi di pericolo e prudenza per PT1, WB1, e WB2:

Il componente pericoloso è una miscela di: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1).



### Attenzione

H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
P261	Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P272	Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P302+P352	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua.
P333+P313	In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.
P362+P364	Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

### Frasi di pericolo e prudenza per MT7:

La miscela non è classificata come pericolosa ai sensi del regolamento (CE) n. 1272/2008.

## 7. Limitazioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Solo per uso professionale.
- Solo per uso non-automatico.
- L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o meno deve essere condotta considerando il contesto della storia clinica, della morfologia, di altri criteri istopatologici e di altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo/genetista umano qualificato avere familiarità con le sonde ISH, i reagenti, i pannelli diagnostici e i metodi utilizzati per la colorazione del preparato. La colorazione deve essere eseguita in un laboratorio certificato e autorizzato sotto la supervisione di un patologo/genetista umano che è responsabile della revisione dei vetrini colorati e della garanzia dell'adeguatezza dei controlli positivi e negativi.
- La colorazione, in particolar modo l'intensità del segnale e il rumore di fondo, dipende da come il campione è stato gestito e processato prima della colorazione stessa. Una fissazione impropria, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento, il sezionamento o la contaminazione con un altro campione o fluido può produrre artefatti o falsi risultati. Risultati incoerenti possono derivare da variazioni nei metodi di fissazione e inclusione.
- La sonda dovrebbe essere usata solo per identificare i loci descritti nella sezione 3 "Reagenti forniti".
- Le prestazioni sono state convalidate utilizzando le procedure descritte nelle istruzioni per l'uso della rispettiva sonda o del kit di implementazione ZytoVision. Le modifiche a queste procedure potrebbero alterare le prestazioni e devono essere convalidate dall'utente. Questo prodotto IVD è certificato come CE solo se utilizzato come descritto in queste istruzioni nell'ambito dell'uso previsto.

## 8. Sostanze interferenti

I globuli rossi presenti nel campione potrebbero esibire auto fluorescenza che disturba l'identificazione dei segnali.

I seguenti fissativi non sono compatibili con la FISH:

- Fissativo di Bouin
- Fissativo B5
- Fissativi acidi (per esempio, acido picrico)
- Fissativo di Zenker
- Alcoli (quando utilizzati da soli)
- Mercurio cloruro
- Formaldeide zincata
- Fissativo di Hollande
- Formalina non tamponata

## 9. Preparazione dei campioni

### Raccomandazioni:

- Fissazione in formalina tamponata neutra al 10% per 24 ore a temperatura ambiente (18°C-25°C).
- Dimensione del campione  $\leq 0,5 \text{ cm}^3$ .
- Utilizzare paraffina di qualità superiore.
- L'inclusione deve essere effettuata a temperature inferiori a 65°C.
- Preparare sezioni al microtomo da 2-4  $\mu\text{m}$ .
- Utilizzare vetrini da microscopio con carica positiva.
- Fissare le sezioni di tessuto per 2-16 ore a 50-60°C.

## 10. Trattamento preparatorio del prodotto

25x Wash Buffer (WB2) deve essere preparato secondo le istruzioni riportate al punto 11. "Procedura di lavoro". Tutti gli altri reagenti del kit sono pronti all'uso. Non è richiesta alcuna ricostituzione, miscelazione o diluizione. Portare la sonda a temperatura ambiente (18-25°C) prima dell'uso, proteggere dalla luce. Prima di aprire la vial, vortexare e centrifugare brevemente.

## 11. Procedura di lavoro

### 11.1 Giorno 1

#### Fasi preparatorie

1. *Preparare due serie di etanolo (soluzioni di etanolo al 70%, 90% e 100%):* Diluire il 100% di etanolo con acqua deionizzata o distillata. Queste soluzioni possono essere conservate in contenitori adeguati e possono essere riutilizzate.
2. *Heat Pretreatment Solution Citric (PT1):* Riscaldare a 98°C.
3. *Wash Buffer SSC (WB1):* Portare a temperatura ambiente (RT). Il WB1 può formare precipitati a 2-8°C, che non influiscono sulla qualità e si dissolvono se riscaldati.
4. *ZytoLight FISH Probe:* Portare a temperatura ambiente prima dell'uso, proteggere dalla luce.

#### Opzionale, se si esegue la fase di post-fissazione:

(fortemente raccomandato se la fissazione del tessuto non è ottimale)

Preparare una soluzione di formaldeide all'1% utilizzando il Formaldehyde Dilution Buffer Set (PT-0006-100)

#### Pretrattamento (decarazione/proteolisi)

1. Incubare i vetrini per 10 minuti a 70°C (ad esempio, su una piastra).
2. Incubare i vetrini per 2x 10 min in xilene.
3. Incubare in etanolo al 100%, 100%, 90% e 70%, ciascuno per 5 minuti.
4. Lavare 2x 2 min in acqua deionizzata o distillata.
5. Incubare per 15 minuti in Heat Pretreatment Solution Citric (PT1) preriscaldato a 98°C.

Si consiglia di non utilizzare più di otto vetrini per barattolo di colorazione.

6. Trasferire immediatamente i vetrini in acqua deionizzata o distillata, lavare per 2x 2 min e scolare o tamponare l'acqua.
7. Applicare (a gocce) la Pepsin Solution (E51) sui campioni e incubare per 15 minuti a 37°C in una camera di umidità.

*E51 può formare precipitati, che non influiscono sulla qualità.*

A seconda di diversi fattori, ad esempio la natura e la durata del fissaggio, lo spessore delle sezioni e la natura dei tessuti/cellule, possono essere necessari tempi di incubazione diversi. Come linea guida per l'incubazione, si consiglia un tempo di incubazione di 2-30 minuti per i campioni di tessuto e di 2-15 minuti per i campioni di cellule. Come regola generale, si consiglia di accertare il tempo ottimale per la proteolisi nei test preliminari.

8. Lavare per 5 minuti in Wash Buffer SSC (WB1).

#### Opzionale, se si esegue la fase di post-fissazione:

Incubare i vetrini per 15 minuti nella soluzione di formaldeide all'1% e lavare successivamente per 5 minuti con il Wash Buffer SSC (WB1)

9. Lavare per 1 minuto in acqua deionizzata o distillata
10. Disidratazione: in etanolo al 70%, 90% e 100%, ciascuno per 1 min
11. Asciugare all'aria le sezioni.

Nota: assicurarsi di asciugare completamente le sezioni prima dell'applicazione della sonda, poiché l'umidità residua può ridurre l'intensità del segnale e/o influenzare la morfologia del tessuto.

## Denaturazione e ibridazione

1. Pipettare 10  $\mu\text{l}$  di ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8) su ciascun campione pretrattato.

*Evitare una lunga esposizione della sonda alla luce.*

2. Coprire i campioni con un vetrino coprioggetto di 22 mm x 22 mm (per evitare la formazione di bolle) e sigillare il vetrino.

*Per la sigillatura si consiglia di utilizzare il cemento di gomma (ad es. Fixogum Rubber Cement).*

3. Posizionare i vetrini su una piastra calda o su un ibridatore e denaturare i campioni per 10 minuti a 75°C.
4. Trasferire i vetrini in una camera di umidità e ibridare per una notte a 37°C (ad esempio, in un forno di ibridazione).

*È essenziale che i campioni di tessuto/cellula non si seccino durante la fase di ibridazione.*

### 11.2 Giorno 2

#### Fasi preparatorie

1. *Preparation of 1x Wash Buffer A:* diluire 1 parte di 25x Wash Buffer A (WB2) con 24 parti di acqua deionizzata o distillata. Riempire tre vasetti di colorazione con l'1x tampone di lavaggio A e preriscaldarlo a 37°C.

*Il 1x Wash Buffer A diluito in 1x è stabile per una settimana se conservato a 2-8°C.*

2. DAPI/DuraTect-Solution (MT7) Portare a temperatura ambiente prima dell'uso, proteggere dalla luce.

#### Post-ibridazione e rilevamento

1. Rimuovere con cautela il cemento o la colla di gomma.
2. Rimuovere il coprioggetto immergendolo in 1x Wash Buffer A a 37°C a 1-3 min.
3. Lavare con 1x Wash Buffer A per 2x 5 min a 37°C.

*Il 1x Wash Buffer A deve essere preriscaldato. Se necessario, controllare con un termometro.*

4. Incubare i vetrini in etanolo al 70%, 90% e 100%, ciascuno per 1 minuto.
5. Asciugare all'aria i campioni al riparo dalla luce.
6. Pipettare 25  $\mu\text{l}$  di DAPI/DuraTect-Solution (MT7) sui vetrini. Per evitare la formazione di bolle, coprire i campioni con un coprioggetto (24 mm x 60 mm). Incubare al buio per 15 minuti.

*L'uso di un puntale tagliato per aumentare le dimensioni dell'apertura può facilitare il processo di pipettaggio. Evitare una lunga esposizione alla luce.*

7. Conservare il vetrino al buio. Per periodi di conservazione più lunghi, la conservazione dovrebbe avvenire a 2-8°C.
8. La valutazione del materiale del campione viene effettuata mediante microscopia a fluorescenza. Sono necessari set di filtri per i seguenti intervalli di lunghezze d'onda:

Colorante fluorescente	Eccitazione	Emissione
ZyGreen	503 nm	528 nm
ZyOrange	547 nm	572 nm

## 12. Interpretazione dei risultati

Con l'uso di set di filtri appropriati, i segnali di ibridazione della sonda appaiono verdi (regione del gene ERBB2) e arancioni (CEN 17).

**Situazione normale:** Nelle interfasi di cellule normali o di cellule senza amplificazione che coinvolgono la regione del gene ERBB2, compaiono due segnali verdi e due arancioni (vedere Fig. 2).

**Situazione aberrante:** Nelle cellule con un'amplificazione della regione del gene ERBB2 si osserva un numero maggiore di segnali verdi o di gruppi di segnali verdi (vedere Fig. 2).

*I segnali che si sovrappongono possono apparire come segnali gialli.*

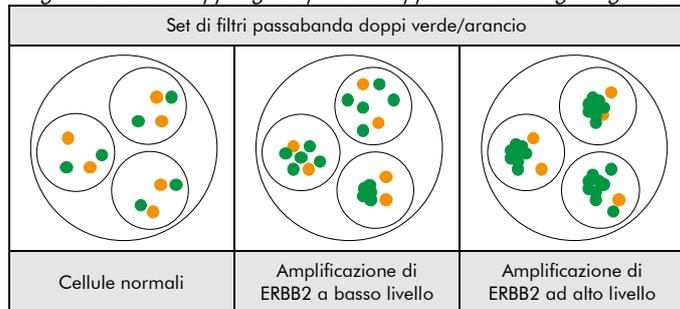


Fig. 2: Risultati attesi in situazione normale e aberrante

Altri pattern di segnali oltre a quelli descritti sopra si potrebbero osservare in alcuni campioni anormali. Questi pattern di segnali inconsueti dovrebbero essere ulteriormente indagati.

#### Note:

- A causa della cromatina decondensata, il singolo segnale FISH può apparire come un piccolo cluster. Due o tre segnali della stessa misura, separate da una distanza  $\leq 1$  del diametro di un segnale, dovrebbero essere contati come un singolo segnale.
- Non valutare i nuclei sovrapposti.
- Non contare nuclei over-digeriti (identificabili da una regione scura all'interno del nucleo).
- Non contare i nuclei con una forte auto fluorescenza, che impedisce l'identificazione dei segnali.
- Un risultato negativo o non specifico potrebbe essere causato da multipli fattori (vedere capitolo 16 "Risoluzione dei problemi").
- Al fine di una corretta interpretazione dei risultati, l'utilizzatore deve validare questo prodotto prima del suo utilizzo in procedure diagnostiche secondo le linee guida nazionali e internazionali.

### 13. Procedure di Controllo qualità raccomandate

Al fine di monitorare la corretta performance del campione processato e testare i reagenti, ogni test dovrebbe essere associato a controlli interni e esterni. Se i controlli interni e/o esterni non forniscono colorazioni appropriate, i risultati con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

**Controllo interno:** Cellule non neoplastiche all'interno di un campione che mostra un pattern normale di segnali.

**Controllo esterno:** Campioni di controlli positivi e negativi validati.

### 14. Caratteristiche di performance

#### 14.1 Prestazioni analitiche

Le prestazioni sono state valutate in base alle istruzioni per l'uso del *ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit*.

Sensibilità analitica:	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
Specificità analitica:	100% (95% CI 97.0 – 100.0)

#### 14.2 Prestazioni cliniche

Sensibilità diagnostica:	<b>Cancro al seno:</b> 93% (95% CI 91.0 – 95.0) basato su un modello bivariato <b>Giunzione gastrica/gastroesofagea:</b> 88% (95% CI 74.0 – 95.0) basato su un modello bivariato
Specificità diagnostica:	<b>Cancro al seno:</b> 98% (95% CI 97.0 – 99.0) basato su un modello bivariato <b>Giunzione gastrica/gastroesofagea:</b> 95% (95% CI 92.0 – 97.0) basato su un modello bivariato

### 15. Smaltimento

Lo smaltimento dei reagenti deve avvenire in accordo alle regolamentazioni locali.

### 16. Risoluzione dei problemi

Qualsiasi modifica dalle istruzioni operative può comportare risultati di colorazione inferiori o a nessuna colorazione. Fare riferimento a [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) per altre informazioni.

#### Segnali deboli o mancanti

Possibile causa	Azione
Campioni cellulari o fissati non correttamente fissati	Ottimizzare il tempo di fissazione e il fissativo o aggiungere un passaggio di post-fissazione
Trattamento proteolitico non condotto in modo adeguato	Ottimizzare il tempo di incubazione in pepsina, aumentandolo o diminuendolo, se necessario
Evaporazione della sonda	Se si utilizza l'ibridatore, è obbligatorio l'utilizzo di strisce umide o di taniche preriempite d'acqua. Se si utilizza una stufa d'ibridazione, usare una camera umida. Inoltre il coprioggetto deve essere completamente sigillato, per esempio con Fixogum, per prevenire che il campione si asciughi durante l'ibridazione
Utilizzo di set di fluorescenza non corretto	Utilizzare un set di filtri appropriato per i fluorocromi della sonda. <i>Il filtro triplo fornisce meno luce rispetto al filtro singolo o doppio. I segnali possono quindi apparire più tenui utilizzando il filtro triplo.</i>

#### Segnali di cross ibridazione; rumori di fondo

Possibile causa	Azione
Sparaffinatura incompleta	Utilizzare soluzioni fresche; controllare la durata della sparaffinatura
Pretrattamento proteolitico troppo forte	Ridurre il tempo di incubazione in pepsina
Vetrini raffreddati a temperature ambiente prima dell'ibridazione	Trasferire i vetrini rapidamente a 37°C

#### Morfologia degradata

Possibile causa	Azione
Il campione cellulare o tissutale non è stato fissato correttamente	Ottimizzare il tempo di fissazione e il fissativo o aggiungere un passaggio di post-fissazione
Pretrattamento proteolitico non condotto correttamente	Ottimizzare il tempo di incubazione in pepsina, aumentandolo o diminuendolo se necessario
Asciugatura insufficiente prima dell'applicazione della sonda	Aumentare i tempi di asciugatura

#### Nuclei sovrapposti

Possibile causa	Azione
Inadeguato spessore della sezione di tessuto	Preparare sezioni al microto dello spessore di 2-4 $\mu\text{m}$

#### Campione galleggiante sul vetrino

Possibile causa	Azione
Pretrattamento proteolitico troppo forte	Ridurre il tempo di incubazione in pepsina

**Controcolorazione debole**

Possibile causa	Azione
Bassa concentrazione di soluzione DAPI	Utilizzare <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Codice prodotto MT-0008-0.8)
Tempo di incubazione in DAPI troppo breve	Aggiustare il tempo di incubazione in DAPI

**17. Letteratura**

- Brockhoff G, et al. (2016) *Histopathology* 69: 635-646.
- Gajaria PK, et al. (2020) *Indian J Pathol Microbiol* 63: 1
- Holten-Rossing H, et al. (2015) *Breast Cancer Res Treat* 152: 367-375.
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-992.
- Jensen SG, et al. (2020) *Apmis* 128: 573-582.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Köseoğlu RD, et al. (2019) *Eur J Breast Health* 15: 43.
- Nielsen SL, et al. (2017) *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 25: 320-328.
- Pfarr N, et al. (2017) *Genes Chromosomes Cancer* 56: 255-265.
- Schindlbeck C, et al. (2010) *J Cancer Res Clin Oncol* 136: 1029-1037.
- Staněk L, et al. (2014) *Mol Med Rep* 10: 2669-2674.
- Tabarestani S, et al. (2015) *Asian Pac J Cancer Prev* 16: 7997-8002.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

**18. Revisione**[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)

Fare riferimento al sito [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) per le istruzioni d'uso più recenti e per le istruzioni d'uso nelle diverse lingue.

I nostri esperti sono disponibili per rispondere alle vostre domande. Contattare per cortesia [helptech@zytovision.com](mailto:helptech@zytovision.com)



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

**Marchi registrati:**

ZytoVision® e ZytoLight® sono marchi registrati da ZytoVision GmbH.