



ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit

REF Z-2020-5 Σ 5

REF Z-2020-20 Σ 20

Per la rilevazione qualitativa delle amplificazioni del gene ERBB2 e della regione alfa-satellite del cromosoma 17 mediante ibridazione *in situ* fluorescente (FISH)



Dispositivo medico – diagnostico in vitro
in conformità alla Direttiva UE 98/79/EC

1. Scopo previsto

Il kit ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit è adibita alla rilevazione qualitativa delle amplificazioni del gene umano ERBB2 e della regione alfa-satellite del cromosoma 17 in campioni fissati in formalina e inclusi in paraffina come tessuti di tumore mammario o tumore gastrico tramite ibridazione *in situ* fluorescente (FISH).

L'interpretazione dei risultati deve essere eseguita da un patologo qualificato, considerando il contesto della storia clinica del paziente rispettando gli altri dati clinici e patologici.

2. Rilevanza clinica

Il gene ERBB2 (anche noto come HER2 e NEU) è localizzato nella regione cromosomica 17q12 e codifica per la glicoproteina transmembrana p185 da 185-190 kDa, agendo come recettore dei fattori di crescita cellulari. La proteina p185 appartiene al sottogruppo EGFR (recettore del fattore di crescita epidermico) della superfamiglia degli RTK (recettore tirosino chinasi) che comprende anche EGFR (ERBB1), ERBB3 (HER3) e ERBB4 (HER4). L'amplificazione del proto-oncogene ERBB2, osservata in circa il 20% di tutti i campioni di tumore mammario, è stata correlata con una prognosi peggiore della malattia. Risultati simili sono stati ottenuti per diverse alter neoplasia maligne, come ad esempio il tumore dell'ovaio, il cancro dello stomaco e i carcinomi delle ghiandole salivari.

3. 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.

4. Reagenti forniti

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

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

Z-2020-5 (5 test): I reagenti **ES1**, **PL8** e **MT7** sono sufficienti per 5 test. Il reagente **WB2** è sufficiente per 5x3 vaschette da 70 ml ciascuna. Il reagente **PT1** è sufficiente per 2 vaschette da 70 ml ciascuna. Il reagente **WB1** è sufficiente per 3 vaschette da 70 ml ciascuna.

Z-2020-20 (20 test): I reagenti **ES1**, **PL8** e **MT7** sono sufficienti per 20 test. Il reagente **WB2** è sufficiente per 11x3 vaschette da 70 ml ciascuna. Il reagente **PT1** è sufficiente per 7 vaschette da 70 ml ciascuna. Il reagente **WB1** è sufficiente per 8 vaschette da 70 ml ciascuna.

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

- Polinucleotidi (~10.0 ng/μl) marcati con fluorocromo ZyGreen (eccitazione 503 nm/emissione 528), le cui sequenze target mappano in 17q12-q21.1* (chr17:37,572,531-38,181,308) in cui è localizzato il gene ERBB2 (vedere Fig. 1).
- Polinucleotidi (~1.5 ng/μl) marcati con fluorocromo ZyOrange (eccitazione 547 nm/emissione 572 nm), le cui sequenze target mappano in 17p11.1-q11.1 specifiche per la regione centromerica alfa-satellite D17Z1 del cromosoma 17.
- Tampone di ibridazione a base di formammide

*conformemente al Human Genome Assembly GRCh37/hg19

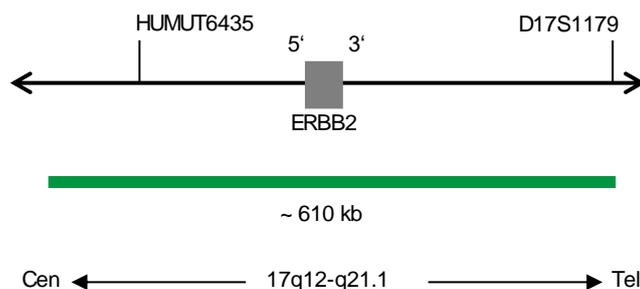


Fig. 1: SPEC ERBB2 Mappa della sonda (non in scala)

5. Materiali richiesti ma non forniti

- Campioni di controllo positivi e negativi
- Vetrini portaoggetto a carica positiva
- Bagno termostato (37 ° C, 98 ° C)
- Ibridizzatore o piastra riscaldante
- Ibridizzatore o camera umida in stufa da ibridazione
- Pipette a volume variabile (10 μl, 25 μl)
- Vaschette di colorazione
- Timer
- Termometro calibrato
- Etanolo o altro reagente alcolico
- Xilene
- Acqua deionizzata o distillata
- Vetrino coprioggetto (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Colla per vetrini, ad esempio, Fixogum Rubber Cement (Codice E-4005-50 / -125) o simile
- Microscopio a fluorescenza (400-1000x)

- Olio di immersione per microscopia a fluorescenza
- Set appropriato di filtri

6. Conservazione e stoccaggio

I componenti del kit devono essere conservati a 2-8°C. Inoltre, la soluzione **DAPI/DuraTect-Solution (MT7)** e la soluzione della sonda **(PL8)** devono essere conservate al riparo da fonti luminose. I reagenti vanno riportati alle condizioni di conservazione previste subito dopo l'uso. Se si rispettano le condizioni di conservazione definite, il kit funzionerà, senza perdere le caratteristiche, almeno fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata in etichetta.

7. Avvertenze e precauzioni

- Leggere le istruzioni prima dell'uso!
- Non utilizzare i reagenti se sono scaduti
- Questo prodotto contiene sostanze (a basse concentrazioni e volumi) che sono nocive per la salute e potenzialmente infette. Evitare qualsiasi contatto diretto con i reagenti. Adottare quindi misure protettive appropriate (guanti monouso, occhiali protettivi e camice da laboratorio)!
- Se i reagenti entrano in contatto con la pelle, risciacquare subito abbondantemente
- La scheda di sicurezza del materiale è disponibile su richiesta per usi professionali.
- Non riutilizzare i reagenti.
- I campioni non devono essere fatti asciugare durante le fasi di ibridazione e lavaggio!
- La sonda **(PL8)** e la soluzione **DAPI/DuraTect-Solution (MT7)** non devono essere esposte alla luce, in particolar modo luci forti, per lunghi periodi di tempo, per esempio tutti i passaggi dovrebbero essere condotti, se possibile, al buio o utilizzando contenitori scuri!

Frase di pericolo e prudenza per 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.

Frase di pericolo e prudenza per PT1, WB1 e WB2:

Il componente pericoloso è una miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1).



Pericolo

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.

8. Limitazioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Solo per usi professionali.
- L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva, o la sua assenza, deve essere condotta considerando il contesto della storia clinica, la morfologia e altri criteri istopatologici come altri test diagnostici. E' di responsabilità di un patologo qualificato avere familiarità con le sonde FISH, reagenti, pannelli diagnostici e metodi usati per produrre il preparato. Le colorazioni devono essere eseguite in un laboratorio certificato e competente sotto la supervisione di un patologo che è responsabile della rivalutazione dei vetrini e che garantisce l'adeguatezza dei controlli positivi e negativi utilizzati.
- 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 4 "Reagenti forniti".
- La performance è stata validata utilizzando le procedure descritte in queste istruzioni per l'uso. Modifiche a queste procedure potrebbero alterare la performance e devono pertanto essere validate dall'utilizzatore.

9. 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

10. Preparazione dei campioni

Raccomandazioni:

- Fissazione in formalina 10% neutra tamponata per 24 h a temperatura ambiente (18-25°C).
- Dimensioni del campione ≤ 0.5 cm³.
- Utilizzare paraffina di qualità.
- L'inclusione dovrebbe essere effettuata a una temperatura inferiore ai 65°C.

- Allestire sezioni al microtomo di 2-4 μm di spessore.
- Utilizzare vetrini a carica positiva.
- Fissare per 2-16 h a 50-60°C.

11. Trattamento preparatorio del campione

Il tampone 25x Wash Buffer (WB2) deve essere pretrattato secondo le istruzioni indicate al punto 12. "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.

12. Procedura di lavoro

12.1 Giorno 1

Passaggi preparatori

- (1) *Preparare due scale alcoliche (etanolo 70%, 90% e 100%):* Diluire l'etanolo 100% con acqua deionizzata o distillata. Queste soluzioni possono essere conservate in contenitori idonei e riutilizzate.
- (2) *Heat Pretreatment Solution Citric (PT1):* scaldare a 98°C.
- (3) *Wash Buffer SSC (WB1):* portare a temperatura ambiente (RT).
- (4) *ZytoLight FISH Probe:* portare a temperatura ambiente prima dell'uso, proteggere dalla luce.

Facoltativo, durante i passaggi di post-fissazione:

(fortemente raccomandate se il tessuto non è fissato in modo ottimale)
Preparare una soluzione di formaldeide 1% utilizzando Formaldehyde Dilution Buffer Set (PT-0006-100).

Pretrattamento (sparaffinatura/proteolisi)

- (1) Incubare i vetrini per 10 minuti a 70°C (per esempio, su piastra calda).
- (2) Incubare i vetrini 2x 10 minuti in xilene.
- (3) Incubare in etanolo 100%, 100%, 90% e 70%, ciascuno per 5 minuti.
- (4) Sciacquare 2x 2 minuti in acqua deionizzata o distillata.
- (5) Incubare per 15 minuti nella soluzione Heat Pretreatment Solution Citric (PT1) preriscaldata a 98°C.

Raccomandiamo di non utilizzare più di 8 vetrini per vaschetta di colorazione.

- (6) Trasferire i vetrini immediatamente in acqua deionizzata o distillata, sciacquare 2x 2 minuti e asciugare e rimuovere l'acqua in eccesso.
- (7) Dispensare (goccia a goccia) la soluzione Pepsin Solution (ES1) sul campione e incubare per 15 minuti a 37°C in camera umida.

A seconda di differenti fattori, come ad esempio la natura e la durata della fissazione, lo spessore delle sezioni e la natura delle cellule e del tessuto, possono essere richiesti tempi di incubazione diversi. Come linea guida per l'incubazione, raccomandiamo un tempo di incubazione compreso tra i 2 e i 30 minuti per i campioni istologici e tra i 2 e i 15 minuti per i campioni citologici. Come regola generale, consigliamo di accertarsi del corretto tempo di proteolisi nei pre-test.

- (8) Lavare per 5 min nel tampone Wash Buffer SSC (WB1).

Facoltativo, durante i passaggi di post-fissazione:

Incubare i vetrini per 15 minuti in una soluzione di formaldeide 1% e lavare poi per 5 minuti in Wash Buffer SSC (WB1)

- (9) Sciacquare per 1 minuto in acqua deionizzata o distillata.
- (10) Disidratazione: in etanolo 70%, 90% e 100%, ciascun passaggio da 1 minuto
- (11) Asciugare le sezioni all'aria.

Nota: Assicurarsi che le sezioni siano completamente asciutte prima dell'applicazione della sonda, in quanto residui di umidità possono ridurre l'intensità del segnale e/o intaccare la morfologia tissutale.

Denaturazione e ibridazione

- (1) Pipettare 10 μl della sonda ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8) su ciascun vetrino pretrattato.

Evitare esposizioni prolungate della sonda alla luce.

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

Raccomandiamo l'utilizzo di una colla per vetrini (per esempio, Fixogum Rubber Cement) per sigillare.

- (3) Mettere i vetrini su una piastra calda o su ibridizzatore e denaturare i campioni per 10 minuti a 75°C.
- (4) Trasferire i vetrini nella camera umida e ibridare overnight a 37°C (per esempio, in una stufa d'ibridazione).

E' fondamentale che i campioni tissutali/cellulari non asciugino durante il passaggio di ibridazione.

12.2 Giorno 2

Passaggi di preparazione

- (1) *Preparazione del tampone 1x Wash Buffer A:* Diluire 1 parte del tampone 25x Wash Buffer A (WB2) con 24 parti di acqua deionizzata o distillata. Riempire tre vaschette con il tampone 1x Wash Buffer A e pre-riscaldare a 37°C.
- (2) DAPI/DuraTect-Solution (MT7): portare a temperatura ambiente prima dell'uso, proteggere dalla luce.

Post-ibridazione e rivelazione

- (1) Rimuovere rapidamente la colla per vetrini.
- (2) Rimuovere il coprioggetto, immergendo il vetrino in 1x Wash Buffer A a 37°C per 1-3 minuti.
- (3) Lavare utilizzando il tampone 1x Wash Buffer A per 2x 5 minuti a 37°C.

Pre-riscaldare il tampone 1x Wash Buffer A. Controllare la temperatura con il termometro, se necessario.

- (4) Incubare i vetrini in etanolo 70%, 90% e 100%, ciascuno per 1 minuto.
- (5) Asciugare i campioni all'aria, proteggendoli dalla luce.
- (6) Dispensare 25 μl di soluzione DAPI/DuraTect-Solution (MT7) sui vetrini. Evitare la formazione di bolle, coprire i campioni con un vetrino coprioggetto (24 mm x 60 mm). Incubare al buio per 15 minuti.

Per facilitare la dispensazione, utilizzare un puntale a cui è stata tagliata la punta. Evitare l'esposizione prolungata alla luce.

- (7) Conservare i vetrini al buio. Per periodi di conservazione più lunghi, conservare a 2-8°C.
- (8) La valutazione dei campioni è condotta tramite microscopia a fluorescenza. Sono richiesti set di filtri con le seguenti lunghezze d'onda:

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

13. Interpretazione dei risultati

Con l'uso 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 amplificazioni che coinvolgono la regione del gene ERBB2, compaiono due segnali verdi e due segnali arancioni (vedere Fig. 2).

Situazione aberrante: nelle cellule con un'amplificazione della regione del gene ERBB2 si osserverà un aumento del numero di segnali verdi o di cluster di segnali verdi (vedere Fig. 2).

I segnali sovrapposti possono apparire come segnali gialli.

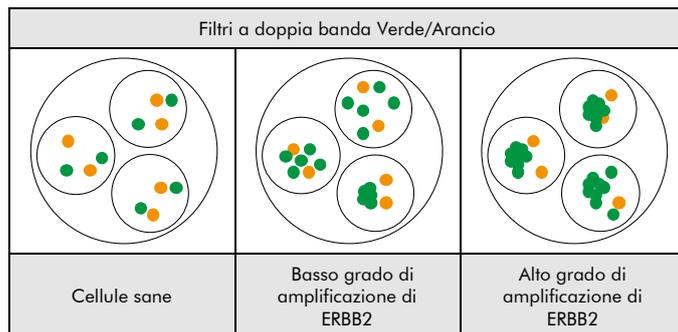


Fig. 2: Risultati attesi in situazione normale e aberrante

Altri pattern di segnali possono essere osservati in campioni anormali che possono dare combinazioni di segnali differenti rispetto a quelli sopradescritti. Pattern di segnali inattesi dovrebbero essere studiati/approfonditi ulteriormente.

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 ≤ 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 inatteso può essere causato da fattori multipli (vedi capitolo 17).
- 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.

14. 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, ad esempio, i fibroblasti.

Controllo esterno: Campioni di controlli positivi e negativi validati.

15. Caratteristiche di performance

Accuratezza: La localizzazione del segnale di ibridazione della sonda è stato valutato in metafasi di maschio con cariotipo normale. In tutti i campioni testati la sonda si è ibridata unicamente con i loci previsti. Non sono stati osservati ulteriori segnali o ibridazioni incrociate. Pertanto, l'accuratezza è pari al 100%.

Sensibilità analitica: Per l'analisi della sensibilità analitica, la sonda è stata valutata su metafasi di cellule normali di maschio con cariotipo normale. Tutti i nuclei hanno mostrato il normale pattern di segnali previsto in tutti i campioni testati. Pertanto, la sensibilità analitica è pari al 100%.

Specificità analitica: Per l'analisi della specificità analitica, la sonda è stata valutata in metafasi di cellule di maschio con cariotipo normale. In tutti i campioni testati, tutti i segnali si sono ibridati esclusivamente con i loci target attesi e con nessun altro locus. Pertanto, la specificità analitica è pari al 100%.

16. Smaltimento

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

17. Risoluzione dei problemi

Qualsiasi modifica dalle istruzioni operative può comportare risultati di colorazione inferiori o a nessuna colorazione.

Segnali deboli o nessun segnale

Possibile causa	Rimedio
Sequenza target non disponibile	Utilizzare controlli appropriati
Campioni cellulari o tissutali non correttamente fissati	Ottimizzare il tempo di fissazione o aggiungere un passaggio di post-fissazione, come descritto al punto "12. Procedura di lavoro".

Temperatura di pretrattamento, proteolisi, denaturazione, ibridazione o di lavaggio di stringenza non corretta	Controllare la temperature di tutti I dispositivi utilizzati, utilizzando un termometro calibrato
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
Concentrazione troppo bassa del tampone di stringenza	Controllare la concentrazione del tampone di stringenza
Soluzione disidratante vecchia	Preparare una soluzione disidratante fresca
Microscopio a fluorescenza impostato in modo non corretto	Regolare il microscopio
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>
Sonde o fluorofori danneggiati a causa della luce	Effettuare I passaggi di ibridazione e di lavaggio al buio

Segnali di cross ibridazione; rumori di fondo

Possibile causa	Azione
Sparaffinatura incompleta	Utilizzare soluzioni fresche; controllare la durata della sparaffinatura
Pretrattamento proteolitico troppo aggressivo	Ridurre il tempo di incubazione in pepsina
Volume di sonda per area troppo elevato	Ridurre il volume di sonda per area/campione, dispensare la sonda goccia a goccia per evitare che si concentri localmente
Vetrini raffreddati a temperature ambiente prima dell'ibridazione	Trasferire i vetrini rapidamente a 37°C
Concentrazione troppo elevata del tampone di stringenza	Controllare la concentrazione del tampone di stringenza
Temperatura di lavaggio post ibridazione troppo bassa	Controllare la temperatura; aumentarla, se necessario
Disidratazione dei campioni tra i diversi passaggi di incubazione	Prevenire la disidratazione sigillando i vetrini e incubandoli in un ambiente umido

Morfologia degradata

Possibile causa	Azione
Il campione cellulare o fissatale non è stato fissato correttamente	Ottimizzare il tempo di fissazione o aggiungere un passaggio di post-fissazione, come descritto al punto "12. Procedura di lavoro".
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 µm

Campione galleggiante sul vetrino

Possibile causa	Azione
Rivestimento inadatto del vetrino	Utilizzare vetrini idonei
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

18. Literature

- Baselga J, et al. (1999) *Semin Oncol* 26: 78-83.
- Brunello E, et al. (2012) *Histopathology* 60: 482-8.
- Brunner K, et al. (2010) *Anal Quant Cytol Histol* 32: 78-89.
- Cochet A, et al. (2012) *J Nucl Med* 53: 512-20.
- Coussens L, et al. (1985) *Science* 230: 1132-9.
- Ettl T, et al. (2012) *Hum Pathol* 43: 921-31.
- Ettl T, et al. (2012) *Br J Cancer* 106: 719-26.
- Fasching P, et al. (2011) *BMC Cancer* 11: 486.
- Haas M, et al. (2011) *Virchows Arch* 458: 403-11.
- Hillig T, et al. (2012) *APMIS* 120: 1000-7.
- Humbert O, et al. (2012) *Ann Oncol* 23: 2572-7.
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-92.
- Hynes NE & Stern DF (1994) *Biochim Biophys Acta* 1198: 165-84.
- Jäger M, et al. (2009) *Cancer Res* 69: 4270-6.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Lang D, et al. (2008) *Diagn Pathol* 3: 49ff.
- Lehmann-Che L, et al. (2011) *Br J Cancer* 104: 1739-46.
- Ly M, et al. (2012) *Oncology* 83: 257-63.
- Moelans CB, et al. (2011) *Crit Rev Oncol Hematol* 80: 380-92.
- Oliveira-Costa JP, et al. (2011) *Diagn Pathol* 6: 73.
- Park JB, et al. (1989) *Cancer Res* 49: 6605-9.
- Parris TZ, et al. (2010) *Clin Cancer Res* 16: 3860-74.
- Perrone G, et al. (2012) *PLoS One* 7: e43110.
- Popescu NC, et al. (1989) *Genomics* 4: 362-6.
- Sassen A, et al. (2008) *Breast Cancer Res* 10: R2.
- Sassen A, et al. (2009) *Breast Cancer Res* 11: R50.
- Schindlbeck C, et al. (2010) *J Cancer Res Clin Oncol* 136: 1029-37.
- Slamon DJ, et al. (1987) *Science* 235: 177-82.
- Vollmann-Zwerenz A, et al. (2010) *Cytometry Part A* 77: 387-99.
- Voutsas IF, et al. (2013) *Int J Radiat Biol* 89: 319-25.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

Our experts are available to answer your questions.
Please contact help@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Germany
Phone: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
Email: info@zytovision.com

Trademarks:

ZytoVision® and ZytoLight® are trademarks of ZytoVision GmbH.