



A Sysmex Group Company



Instrucciones de uso
REF.: LPS 100

Kit de pretratamiento de tejido (Tissue Pretreatment Kit)

PRODUCTO PARA USO GENERAL EN LABORATORIO

PARA USO EN LABORATORIO

SOLO PARA USO PROFESIONAL



ogt.com/CytoCell

Más información y otros idiomas disponibles en ogt.com/CytoCell

Uso previsto

Para su uso en el pretratamiento térmico y la digestión enzimática de tejido fijado en formol e incluido en parafina (FFPE) antes de someterlo a detección por hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) o hibridación *in situ* cromogénica (CISH).

El producto está destinado a su uso general en laboratorio o en una prueba desarrollada por un laboratorio (LDT). Si se utiliza como parte de una LDT, la validación de esta antes de utilizarla en un entorno clínico corresponderá al laboratorio que la desarrolle.

Materiales suministrados

Reactivo 1 (LPS 100A):

Un litro de solución de pretratamiento térmico, pH 7,0 (lista para usar)

Reactivo 2 (LPS 100B):

Un frasco de 10 ml de reactivo enzimático (contiene pepsina; listo para usar)

Advertencias y precauciones

1. Producto para uso general en laboratorio. Exclusivamente para uso profesional en laboratorio.
2. EE. UU.: reactivo de uso general (GPR). Para uso en laboratorio.
3. Solución de pretratamiento térmico: manipúlela con cuidado; utilice guantes y bata de laboratorio.
4. Reactivo enzimático: contiene pepsina. manipúlelo con cuidado; utilice guantes y bata de laboratorio.
5. No utilice el kit si el contenido está dañado o su integridad se ha puesto en riesgo de cualquier modo.
6. Cumpla con las normas nacionales relativas a la eliminación de residuos y con las recomendaciones de la ficha de datos de seguridad para eliminar de forma segura este producto. Esta instrucción también es pertinente si el contenido del kit está dañado.
7. Elimine todos los reactivos usados y cualquier otro material desechable contaminado según los procedimientos vigentes para residuos infecciosos o potencialmente infecciosos. El laboratorio es el responsable de la manipulación de los residuos sólidos y líquidos según su naturaleza y nivel de peligrosidad, así como de su tratamiento y eliminación (ya sea por cuenta propia o a través de terceros) de acuerdo con la normativa vigente.
8. No respetar el protocolo descrito puede afectar al rendimiento de los reactivos.

Definiciones de temperatura

- 4 °C/2-8 °C/En el refrigerador: De +2 a +8 °C
- 37 °C: +37 ± 1 °C
- Temperatura ambiente: De +15 a +25 °C

Conservación y manipulación

Debe conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C en el refrigerador hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Materiales y artículos auxiliares recomendados, pero no suministrados con el kit LPS 100

- Frascos de lavado de porcelana (PCN 009)
- Placa calefactora (capaz de alcanzar y mantener una temperatura de 37 °C durante, al menos, 30 minutos)
- Baño de agua (capaz de alcanzar y mantener una temperatura de entre 98 y 100 °C durante, al menos, 20-30 minutos)
- Campana extractora/cabina de seguridad (para el paso de desparafinado)
- Termómetro de mercurio
- Termómetro de lámina para superficies (PCN 002)

- Portaobjetos de vidrio (Superfrost o equivalente, con carga positiva)
- Cubreobjetos de vidrio (para digestión)

Estabilidad

No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de estos reactivos. Se han sometido a controles de calidad para garantizar un rendimiento uniforme y fiable. No los utilice una vez que haya vencido la fecha de caducidad que aparece marcada en el recipiente. Si se conservan en forma adecuada, no debería producirse una pérdida sensible de rendimiento. Si los reactivos se conservan en condiciones diferentes a las que aquí se especifican, el usuario deberá validarlas.

Preparación del tejido

Para obtener unos resultados óptimos, se recomienda utilizar portaobjetos con carga positiva (+). Este kit de pretratamiento está indicado para su uso una vez que los portaobjetos FFPE se han desparafinado y rehidratado según los procedimientos citogenéticos estándar. Lleve a cabo el pretratamiento térmico y la digestión enzimática tal y como se recomienda en las instrucciones incluidas con la sonda de hibridación *in situ*. Si no dispone de las instrucciones de la sonda, puede llevar a cabo el siguiente procedimiento.

Pretratamiento térmico

1. Caliente 50 ml de solución de pretratamiento de tejido (reactivo 1) en un frasco de lavado de porcelana o frasco Coplin sumergido en un baño de agua hasta que hierva o se alcance una temperatura de 98-100 °C. Hierva los portaobjetos durante 30 minutos. Nota 1: Es posible que se necesiten diferentes tiempos de incubación en función de la fijación del tejido. Se recomienda un periodo inicial de incubación de 30 minutos. Nota 2: En aras de la seguridad, se recomienda el uso de doble guante y pinzas para manipular los portaobjetos. Los frascos de lavado de porcelana (PCN 009) ofrecen una mayor estabilidad de la temperatura en comparación con los tarros Coplin convencionales de vidrio y una menor probabilidad de rotura.

2. Lave los portaobjetos en agua destilada a temperatura ambiente dos veces durante 3 minutos cada vez.

Digestión enzimática

Se debe sacar la enzima del refrigerador y dejar que alcance la temperatura ambiente antes de su aplicación.

1. Cubra el tejido con el reactivo enzimático* (reactivo 2) durante 10 minutos[^] a 37 °C en una placa calefactora o un hibridador. * La cantidad necesaria de reactivo enzimático puede variar en función de la muestra, pero debería ser suficiente para cubrir la sección de tejido por completo. [^] En función del fijador de tejido que se haya utilizado, es posible que se necesiten diferentes tiempos de incubación. La digestión excesiva provocará la pérdida del núcleo y de la estructura cromosómica. Consulte la sección «Resolución de problemas» para obtener información más detallada al respecto.
2. Vuelva a colocar el reactivo enzimático en el refrigerador para que conserve la estabilidad.

Nota: Asegúrese de que la sección de tejido no se seque durante la digestión. Es posible que deba añadir más reactivo enzimático para evitarlo. Póngase en contacto con el equipo de asistencia técnica a través de la dirección techsupport@cytozell.com o consulte la sección FISH 'n' Tips del sitio web de CytoCell para obtener consejos sobre la forma de optimizar el protocolo en función de las necesidades de su laboratorio.

3. Lave los portaobjetos en agua destilada a temperatura ambiente tres veces durante 2 minutos cada vez.
4. Deshidrate los portaobjetos a temperatura ambiente en una serie de baños de etanol al 70 %, 85 %, 100 % y 100 %, durante 2 minutos en cada uno de ellos, y deje que se sequen al aire.

Protocolo FISH

Llegado este punto, los portaobjetos están preparados para la aplicación de la sonda; consulte las instrucciones de uso específicas de la sonda para obtener información más detallada o el protocolo de su propia LDT validada.

Resolución de problemas

1. A menos que se indique lo contrario, es importante que, durante todo el procedimiento, la sección de tejido no se deshidrate.
2. **Pretratamiento térmico (un paso crucial para obtener un rendimiento adecuado):** la muestra debe hervirse o calentarse a una temperatura superior a 98 °C durante 30 minutos en la solución de pretratamiento térmico. Las condiciones locales, como la altitud o la humedad, pueden afectar al punto de ebullición de la solución.
3. **Digestión enzimática (el paso más importante para obtener un rendimiento adecuado):** es posible que sea necesario aplicar diferentes tiempos de incubación enzimática (entre 5 y 45 minutos) en función del tipo de tejido y del método de fijación. **Para la mayoría de los tejidos de mama, los mejores resultados se obtienen con una digestión enzimática de 10 minutos a 37 °C. Asegúrese de que el reactivo de pretratamiento enzimático alcance la temperatura ambiente antes de añadirlo a la sección de tejido.** El pretratamiento enzimático de la muestra se debe evaluar de inmediato cuando finalice el protocolo de hibridación. Si no se observa contracción DAPI en los núcleos y la señal es inexistente o muy débil, esto puede deberse a la pérdida de material del núcleo como resultado de una digestión excesiva. Si existe una contracción intensa en los núcleos, pero no generan ninguna señal, esto puede deberse a una digestión deficiente durante el pretratamiento con pepsina.
4. La desnaturalización de la sonda a una temperatura inferior a la recomendada en el protocolo puede dar lugar a que la señal sea débil o inexistente.
5. Las hibridaciones llevadas a cabo durante periodos de tiempo más cortos o los lavados exigentes realizados a temperaturas más elevadas que los valores recomendados en el protocolo pueden dar lugar a una atenuación o pérdida total de la señal.

Tiempos recomendados para los tipos de tejido más habituales:

Tipo de tejido	Tiempo de pretratamiento (minutos)	Digestión enzimática (minutos)
Mama	30	10-40
Pulmón	25	15-20
Ovario	20	10
Riñón	20	20-25
Colon	30	20
Células de Schwann (tejido nervioso)	30	15
Cerebro	30	15-18

Los tiempos óptimos de digestión y pretratamiento pueden variar. En las páginas de asistencia técnica del sitio web de OGT puede obtener ayuda adicional para la resolución de problemas, así como consejos FISH 'n' Tips y manuales técnicos.

Información adicional

Para obtener información adicional sobre el producto, póngase en contacto con el departamento de asistencia técnica de CytoCell.
Teléfono: +44 (0)1223 294048
Correo electrónico: techsupport@cytozell.com
Página web: www.ogt.com

Bibliografía

Glosario de símbolos

EN ISO 15223-1:2021 - "Productos sanitarios. Símbolos a utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar. Parte 1: Requisitos generales." (© International Organization for Standardization 2021)		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Fabricante	5.1.1
	es: Fecha de caducidad	5.1.4
	es: Código de lote	5.1.5
	es: Número de catálogo	5.1.6
	es: Límite de temperatura	5.3.7
	es: Consultar las instrucciones de uso	5.4.3
	es: Consultar la versión electrónica de las instrucciones de uso	5.4.3
	es: Aviso	5.4.4
Símbolos de la EDMA para reactivos y componentes de IVD, revisión de octubre de 2009		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Contenido (o contiene)	NA

Patentes y marcas comerciales

CytoCell es una marca registrada de Cytozell Limited.



Cytozell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
REINO UNIDO

Teléfono: +44 (0)1223 294048
Fax: +44 (0)1223 294986
Correo electrónico: probes@cytozell.com
Página web: www.ogt.com

LICENCIA DEL PROSPECTO

Este producto se proporciona en virtud del acuerdo entre Life Technologies Corporation y Cytozell Ltd. La adquisición de este producto otorga al comprador el derecho intransferible de utilizar la cantidad adquirida del producto únicamente para la investigación biosanitaria o para el diagnóstico de pacientes, tal y como se establece en la documentación adjunta al producto. La venta de este producto está expresamente condicionada a que el comprador no utilice el producto o sus componentes: (1) para fines de fabricación; (2) para prestar un servicio o proporcionar información o datos a un tercero no afiliado a cambio de un pago, salvo que se trate de servicios de pruebas diagnósticas para pacientes; (3) para fines terapéuticos o profilácticos; o (4) para revender, vender o transferir de cualquier otro modo este producto o sus componentes a un tercero, o bien para su uso con cualquier otro fin distinto de la investigación biosanitaria o el diagnóstico de pacientes, independientemente de que este producto o sus componentes se revendan para su uso en investigación o diagnóstico de pacientes. Para solicitar más información sobre cómo obtener derechos de uso de este producto para otros fines, póngase en contacto con outlicensing@lifetech.com.