



A Sysmex Group Company



Istruzioni per l'uso
RIF: LPS 100

Kit di trattamento preliminare dei tessuti (Tissue Pretreatment Kit)

PRODOTTO PER USO GENERALE DI LABORATORIO

PER USO DI LABORATORIO

SOLO PER USO PROFESSIONALE



ogt.com/CytoCell

Ulteriori informazioni e altre lingue disponibili su ogt.com/CytoCell

Uso previsto

Il prodotto è destinato all'uso per il trattamento preliminare termico e la digestione enzimatica di tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (formalin-fixed, paraffin embedded, FFPE) prima della rilevazione tramite ibridizzazione fluorescente *in situ* (fluorescent in situ hybridisation, FISH) o ibridizzazione cromogenica *in situ* (chromogenic in situ hybridisation, CISH).

Questo prodotto è destinato all'uso generale di laboratorio o all'uso in un test sviluppato in laboratorio (laboratory developed test, LDT). Se usato come parte di un LDT, è responsabilità del laboratorio sviluppare e convalidare il test prima dell'uso in un ambiente clinico.

Materiali forniti

Reagente 1 (LPS 100A):

Un litro di soluzione per il trattamento preliminare termico, pH 7,0 (pronta per l'uso)

Reagente 2 (LPS 100B):

Un flaconcino da 10 mL di reagente enzimatico (contenente pepsina, pronto per l'uso)

Avvertenze e misure precauzionali

1. Prodotto per uso generale di laboratorio. Solo per uso professionale di laboratorio.
2. Stati Uniti: Reagente per fini generali (GPR). Per uso di laboratorio.
3. Soluzione per il trattamento preliminare termico: Maneggiare con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
4. Reagente enzimatico: Contiene pepsina. Maneggiare con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
5. Non utilizzare se i contenitori del kit sono danneggiati o compromessi in alcun modo.
6. Attenersi ai regolamenti sullo smaltimento per la propria località insieme alle raccomandazioni presenti nella Scheda tecnica di sicurezza per stabilire lo smaltimento sicuro del prodotto. Ciò si applica anche ai contenitori danneggiati in un kit.
7. Smaltire tutti i reagenti usati e i materiali monouso contaminati attenendosi alle procedure per i rifiuti a rischio biologico certo o potenziale. È responsabilità di ciascun laboratorio maneggiare i rifiuti solidi e liquidi secondo la rispettiva natura e il livello di pericolosità, gestendoli e smaltendoli (o disponendone la gestione e lo smaltimento) nel rispetto dei regolamenti applicabili.
8. La mancata aderenza al protocollo descritto può incidere sulle prestazioni dei reagenti.

Definizioni delle temperature

- 4 °C / 2-8 °C / in frigorifero da +2 °C a +8 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- Temperatura ambiente (room temperature, RT): da +15 °C a +25 °C

Conservazione e utilizzo

Conservare a 2-8 °C in frigorifero fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Materiali e componenti di supporto raccomandati ma non forniti con LPS 100

- Contenitori di lavaggio in porcellana (PCN 009)
- Piastra riscaldante (capace di raggiungere e mantenere 37 °C per almeno 30 minuti)
- Bagno termostatico (capace di raggiungere e mantenere 98-100 °C per almeno 20-30 minuti)
- Cappa aspirante/cappa di sicurezza biologica (per la fase di sparaffinatura)
- Termometro a mercurio

- Termometro per la superficie dei vetrini (PCN 002)
- Vetrini in vetro (Superfrost o simili, caricati positivamente)
- Coprioggetti in vetro (digestione)

Stabilità

Non sono stati riscontrati segni in grado di indicare l'instabilità dei reagenti. I reagenti sono stati sottoposti a un controllo di qualità, per assicurare prestazioni costanti e affidabili. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sulla confezione. Conservati correttamente, i reagenti non mostrano una degradazione significativa delle prestazioni. Se i reagenti sono stati conservati in condizioni diverse da quelle indicate, l'utente dovrà convalidare tali condizioni di conservazione.

Preparazione dei tessuti

Per risultati ottimali, si raccomanda l'uso di vetrini caricati positivamente (+). Questo kit di trattamento preliminare deve essere utilizzato dopo la sparaffinatura e la reidratazione dei vetrini FFPE secondo le procedure citogenetiche standard. Eseguire il trattamento preliminare termico e la digestione enzimatica secondo le raccomandazioni contenute nelle istruzioni per l'uso della sonda ISH. In mancanza delle istruzioni per l'uso della sonda, attenersi alla procedura seguente.

Trattamento preliminare termico

1. Scaldare 50 mL di soluzione di trattamento preliminare dei tessuti (Reagente 1) in un contenitore di lavaggio in porcellana o in un contenitore di Coplin immerso in un bagno termostatico fino alla bollitura o al raggiungimento di 98-100 °C. Bollire i vetrini per 30 minuti (nota: il tempo di incubazione può variare a seconda del metodo di fissazione dei tessuti. Si raccomanda come punto di partenza un tempo di incubazione di 30 minuti). Nota: come misura di sicurezza, si raccomanda l'uso di doppi guanti e pinzette per la manipolazione dei vetrini. I contenitori di lavaggio in porcellana (PCN 009) offrono una migliore stabilità della temperatura e una maggiore resistenza alla rottura rispetto ai normali contenitori di Coplin in vetro.

2. Lavare in dH₂O a temperatura ambiente (RT) per 2 x 3 minuti.

Digestione enzimatica

Prima dell'applicazione, l'enzima deve essere rimosso dal frigorifero e portato a temperatura ambiente.

1. Ricoprire il tessuto con il reagente enzimatico* (Reagente 2) per 10 minuti^Δ a 37 °C su una piastra riscaldante o un ibridizzatore. * la quantità di reagente enzimatico necessaria può variare a seconda del campione, ma deve essere sufficiente a ricoprire l'intera sezione di tessuto. ^Δ il tempo di incubazione può variare a seconda del fissativo per tessuti impiegato. Una digestione eccessiva comporta la perdita di nuclei e della struttura cromosomica. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla sezione Risoluzione dei problemi.
2. Riporre il reagente enzimatico in frigorifero per mantenerne la stabilità. Nota: accertarsi che la sezione di tessuto non si essicchi durante la digestione. Per evitare ciò, potrebbe essere necessario aggiungere ulteriore reagente enzimatico. Contattare il supporto tecnico all'indirizzo e-mail techsupport@cytoCELL.com o consultare la sezione FISH 'n' Tips del sito web CytoCell per suggerimenti su come sviluppare un protocollo ottimale per le necessità del proprio laboratorio.
3. Lavare in dH₂O a RT per 3 x 2 minuti.
4. Disidratare i vetrini in una serie di etanolo al 70%, 85%, 100% e 100% per 2 minuti ciascuno a temperatura ambiente e lasciare essiccare spontaneamente.

Protocollo FISH

Ora i vetrini sono pronti per l'applicazione della sonda; per ulteriori informazioni, fare riferimento alle istruzioni per l'uso specifiche per la sonda o consultare il protocollo del proprio LDT convalidato.

Risoluzione dei problemi

1. Salvo diversa indicazione, è importante evitare che l'essiccazione della sezione di tessuto durante l'intera procedura.
2. **Trattamento preliminare termico (una fase importante per ottenere prestazioni soddisfacenti):** Il campione deve essere bollito o scaldato a una temperatura superiore a 98 °C per 30 minuti in una soluzione per il trattamento preliminare termico. Il punto di ebollizione della soluzione può variare a seconda delle condizioni locali, ad es. altitudine, umidità ecc.
3. **Digestione enzimatica (la fase più importante per ottenere prestazioni soddisfacenti):** Il tempo di incubazione dell'enzima (5-45 minuti) può variare a seconda del tipo di tessuto e del metodo di fissazione. **Per la maggior parte dei tessuti mammari, una digestione enzimatica da 10 minuti a una temperatura di 37 °C permetterà di ottenere i risultati migliori. Accertarsi di preriscaldare il reagente enzimatico per il trattamento preliminare a temperatura ambiente prima di aggiungerlo alla sezione di tessuto.** Il trattamento preliminare enzimatico del campione deve essere valutato subito dopo il completamento del protocollo di ibridizzazione. Se i nuclei non sono controcolorati con DAPI e il segnale è assente o molto debole, ciò potrebbe essere riconducibile a una perdita di nuclei causata da una digestione eccessiva. Se i nuclei presentano una forte controcolorazione ma il segnale è assente, ciò potrebbe essere riconducibile a una digestione insufficiente durante il trattamento preliminare con la pepsina.
4. La denaturazione della sonda a una temperatura inferiore a quella raccomandata dal protocollo può causare la perdita o l'indebolimento del segnale.
5. L'esecuzione dell'ibridizzazione per un periodo di tempo inferiore a quello raccomandato o dei lavaggi di astringenza a temperature superiori a quelle raccomandate dal protocollo possono causare un indebolimento o la completa perdita del segnale.

Tempi raccomandati per tipi di tessuti comuni:

Tipo di tessuto	Tempo di trattamento preliminare (minuti)	Digestione enzimatica (minuti)
Mammella	30	10 – 40
Polmone	25	15 – 20
Ovaio	20	10
Rene	20	20 – 25
Colon	30	20
Cellule di Schwann (tessuto nervoso)	30	15
Cervello	30	15 – 18

Il tempo ottimale di trattamento preliminare e di digestione può variare. Per ricevere ulteriore supporto nella risoluzione dei problemi e per consultare i suggerimenti FISH n° Tips e le guide tecniche, fare riferimento alle pagine di assistenza del sito web OGT.

Informazioni aggiuntive

Per informazioni aggiuntive sul prodotto contattare il Dipartimento di Assistenza Tecnica CytoCell.

T: +44 (0)1223 294048

E-mail: techsupport@cytozell.com

Sito web: www.ogt.com

Bibliografia

Glossario dei simboli

EN ISO 15223-1:2021 - "Dispositivi medici - Simboli da usare con le informazioni fornite dal produttore - Parte 1: Requisiti generali" (© International Organization for Standardization 2021)		
Simbolo	Titolo	Numero/i di riferimento
	it: Fabbricante	5.1.1
	it: Data di scadenza	5.1.4
	it: Codice del lotto	5.1.5
	it: Numero di catalogo	5.1.6
	it: Limite di temperatura	5.3.7
	it: Consultare le istruzioni per l'uso	5.4.3
	it: Consultare le istruzioni per l'uso elettroniche	5.4.3
	it: Attenzione	5.4.4
Simboli EDMA per reagenti e componenti dell'IVD, revisione ottobre 2009		
Simbolo	Titolo	Numero/i di riferimento
	it: Contenuto (o contiene)	N/A

Brevetto e marchi registrati

CytoCell è un marchio registrato di Cytozell Limited.



Cytozell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road

CB4 0PZ

REGNO UNITO

F: +44 (0)1223 294986

E-mail: probes@cytozell.com

Sito web: www.ogt.com

LICENZA

Il presente prodotto è fornito secondo un accordo tra Life Technologies Corporation e Cytozell Ltd. L'acquisto del presente prodotto trasferisce all'acquirente un diritto d'uso non trasferibile per la quantità di prodotto acquistata limitatamente alla ricerca nel settore delle scienze della vita e alla diagnostica umana, come descritto negli allegati relativi al prodotto. La vendita del presente prodotto è espressamente soggetta alla condizione che l'acquirente non utilizzi il prodotto o i suoi componenti (1) nella fabbricazione; (2) per fornire a pagamento servizi, informazioni o dati diversi da quelli relativi ai test per la diagnostica umana a una terza parte non affiliata; (3) per scopi terapeutici o profilattici; (4) per vendere, rivendere o trasferire in altro modo il presente prodotto o le sue componenti a una terza parte, oppure affinché venga utilizzato in contesti diversi da quelli della ricerca nel settore delle scienze della vita e della diagnostica umana, a prescindere dall'eventualità che il prodotto o i suoi componenti possano essere stati rivenduti per l'uso a scopo di ricerca o nella diagnostica umana. Per ulteriori informazioni sull'ottenimento dei diritti d'uso del presente prodotto per scopi diversi da quelli previsti, contattare outlicensing@lifetech.com.