



A Sysmex Group Company



Instrukcja użytkownika
REF: LPS 100

Tissue Pretreatment Kit

PRODUKT DO OGÓLNEGO UŻYTKU LABORATORYJNEGO

DO UŻYTKU LABORATORYJNEGO

WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU PROFESJONALNEGO



ogt.com/CytoCell

Dalsze informacje oraz dokumenty w innych językach są dostępne pod adresem ogt.com/CytoCell

Przeznaczenie

Do użytku podczas wstępnej obróbki cieplnej i trawienia enzymatycznego tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (Formalin-Fixed, Paraffin Embedded, FFPE) przed przeprowadzeniem detekcji metodą fluorescencyjnej hybrydacji *in situ* (Fluorescence *In Situ* Hybridisation, FISH) lub chromogenicznej hybrydacji *in situ* (Chromogenic *In Situ* Hybridisation, CISH). Ten produkt jest przeznaczony do ogólnego użytku laboratoryjnego lub do użytku w ramach testów opracowanych w laboratorium (Laboratory Developed Test, LDT). Jeśli produkt jest wykorzystywany jako część testu LDT, laboratorium opracowujące test jest odpowiedzialne za walidację testu przed zastosowaniem go w warunkach klinicznych.

Dostarczone materiały

Odczynnik 1 (LPS 100A):

Jeden litr roztworu do wstępnej obróbki cieplnej, pH 7,0 (gotowy do użytku)

Odczynnik 2 (LPS 100B):

Jedna butelka zawierająca 10 ml odczynnika enzymatycznego (zawiera pepsynę, gotowy do użytku)

Ostrzeżenia i środki ostrożności

1. Produkt do ogólnego użytku laboratoryjnego. Wyłącznie do użytku profesjonalnego w laboratorium.
2. USA: Odczynnik ogólnego przeznaczenia (General Purpose Reagent, GPR). Do użytku laboratoryjnego.
3. Roztwór do wstępnej obróbki cieplnej: Zachować ostrożność podczas pracy z tym produktem; nosić rękawiczki i fartuch laboratoryjny.
4. Odczynnik enzymatyczny: Zawiera pepsynę. Zachować ostrożność podczas pracy z tym produktem; nosić rękawiczki i fartuch laboratoryjny.
5. Nie używać produktu, jeśli elementy zestawu są uszkodzone lub w jakikolwiek sposób naruszone.
6. W celu bezpiecznego usuwania tego produktu należy postępować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi usuwania odpadów oraz zaleceniami zawartymi w karcie charakterystyki (SDS). Dotyczy to również uszkodzonych elementów zestawu.
7. Wszystkie zużyte odczynniki oraz wszelkie inne zanieczyszczone materiały jednorazowe należy usuwać zgodnie z procedurami obowiązującymi dla odpadów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych. Każde laboratorium jest odpowiedzialne za postępowanie z odpadami stałymi i płynnymi stosownie do ich właściwości i stopnia zagrożenia oraz przetwarzanie i usuwanie ich (lub zlecenie ich przetwarzania i usuwania) zgodnie z wszelkimi obowiązującymi przepisami.
8. Nieprzestrzeganie określonego protokołu może wpłynąć na działanie odczynników.

Definicje temperatur

- 4°C / 2–8°C / w chłodziarce od +2°C do +8°C
- 37°C: +37°C ±1°C
- Temperatura pokojowa: od +15°C do +25°C

Przechowywanie i postępowanie z produktem

Przechowywać w chłodziarce w temperaturze 2–8°C do daty ważności wskazanej na etykiecie.

Materiały i wyposażenie pomocnicze zalecane, ale niedostarczane z zestawem LPS 100

- Porcelanowe naczynia do płukania szkiełek (PCN 009)
- Płyta grzewcza (umożliwiająca osiągnięcie temperatury 37°C i utrzymanie jej przez co najmniej 30 minut)

- Łażnia wodna (umożliwiająca osiągnięcie temperatury 98–100°C i utrzymanie jej przez co najmniej 20–30 minut)
- Dygestorium/komora robocza (na czas deparafinacji)
- Termometr rtęciowy
- Termometr do pomiaru temperatury powierzchni płyty grzewczej (PCN 002)
- Szkiełka podstawowe (Superfrost lub równoważne, naładowane dodatkowo)
- Szkiełka nakrywkowe (na czas trawienia)

Stabilność

Nie zidentyfikowano żadnych oczywistych oznak, które wskazywałyby utratę stabilności tych odczynników. Odczynniki te podlegają kontroli jakości przeprowadzanej w celu zapewnienia ich konsekwentnego i niezawodnego działania. Nie używać po upływie daty ważności wytłoczonej na pojemniku. Nie zaobserwowano istotnej utraty skuteczności odczynników przechowywanych w odpowiednich warunkach. W przypadku przechowywania odczynników w warunkach innych niż określone użytkownik musi poddać te warunki walidacji.

Przygotowanie tkanek

W celu uzyskania optymalnych wyników zalecane jest korzystanie ze szkiełek naładowanych dodatkowo (+). Ten zestaw do wstępnej obróbki jest przeznaczony do użytku po deparafinacji i ponownym uwodnieniu preparatów FFPE zgodnie ze standardowymi procedurami cytogenetycznymi. Wstępną obróbkę cieplną i trawienie enzymatyczne należy przeprowadzać zgodnie z instrukcjami dołączonymi do sondy ISH. W przypadku braku dostępu do instrukcji dołączonych do sondy można wykonać poniższą procedurę.

Wstępna obróbka cieplna

1. Ogrzewać 50 ml roztworu do wstępnej obróbki cieplnej (Odczynnik 1) w porcelanowym naczyniu do płukania lub naczyniu Coplina zanurzoną w łaźni wodnej do momentu, aż roztwór zacznie wrzeć lub osiągnie temperaturę 98–100°C. Gotować preparaty przez 30 minut (Uwaga: w zależności od metody wykorzystanej do utrwalenia tkanki może być wymagany inny czas inkubacji). Zalecane jest rozpoczęcie od 30-minutowej inkubacji). Uwaga: ze względów bezpieczeństwa podczas manipulowania szkiełkami zalecane jest noszenie podwójnych rękawiczek i korzystanie z pęsety. Porcelanowe naczynia do płukania szkiełek (PCN 009) zapewniają lepszą stabilność temperatury i są mniej podatne na pęknięcia niż tradycyjne szklane naczynia Coplina.

2. Preparaty płukać 2 razy przez 3 minuty w dH₂O w temperaturze pokojowej.

Trawienie enzymatyczne

Przed naniesieniem enzymu na szkiełko należy wyjąć enzym z chłodziarki i doprowadzić go do temperatury pokojowej.

1. Nanieść odczynnik enzymatyczny* (Odczynnik 2) na tkankę i pozostawić na 10 minut[^] w temperaturze 37°C na płycie grzewczej lub w piecu hybrydacyjnym. *wymagana ilość odczynnika enzymatycznego może różnić się między próbkami; należy jednak użyć takiej ilości, aby pokryć odczynnikiem cały skrawek tkanki. [^]czas inkubacji może różnić się w zależności od środka użytego do utrwalenia tkanki. Nadmierne trawienie spowoduje utratę jąder komórkowych i struktury chromosomów. Szczegółowe informacje zawiera sekcja „Rozwiązywanie problemów”.
2. Aby odczynnik enzymatyczny zachował stabilność, po użyciu należy ponownie umieścić go w chłodziarce.

Uwaga: należy dbać o to, aby skrawek tkanki nie wyschł podczas trawienia. Aby zapobiec wyschnięciu, konieczne może być dodanie większej ilości odczynnika enzymatycznego. W celu uzyskania porad w kwestii opracowania protokołu optymalnego dla potrzeb danego laboratorium należy skontaktować się z działem wsparcia technicznego, wysyłając wiadomość e-mail na adres techsupport@cytocell.com, lub zapoznać się z sekcją „FISH 'n' Tips” na stronie internetowej firmy CytoCell.

3. Preparaty płukać 3 razy przez 2 minuty w dH₂O w temperaturze pokojowej.
4. Odwodnić preparaty w szeregu alkoholowym (etanol w stężeniach 70%, 85%, 100% i 100%), zanurzając preparaty na 2 minuty w każdym roztworze w temperaturze pokojowej. Pozostawić do wyschnięcia na powietrzu.

Protokół FISH

Preparaty są teraz gotowe do naniesienia na nie roztworów sond. Szczegółowe informacje na ten temat zawiera instrukcja użytkownika danej sondy lub protokół zwalidowanego testu LDT wykorzystywanego w danym laboratorium.

Rozwiązywanie problemów

1. Podczas całej procedury należy dbać o to, aby skrawek tkanki nie wyschł (o ile nie wskazano inaczej).
2. **Wstępna obróbka cieplna (krok krytyczny dla powodzenia procesu):** Próbkę należy gotować lub ogrzewać w roztworze do wstępnej obróbki cieplnej w temperaturze powyżej 98°C przez 30 minut. Warunki lokalne, w tym wysokość n.p.m., wilgotność itp., mogą wpływać na temperaturę wrzenia roztworu.
3. **Trawienie enzymatyczne (najbardziej krytyczny krok dla powodzenia procesu):** W zależności od typu tkanki i zastosowanej metody utrwalenia może być wymagany inny czas inkubacji z enzymem (5–45 minut). **W przypadku większości tkanek piersi najlepsze wyniki są osiągnięte przy 10-minutowym trawieniu enzymatycznym w temperaturze 37°C. Przed dodaniem na skrawek tkanki odczynnika do wstępnej obróbki enzymatycznej należy upewnić się, że odczynnik został ogrzany do temperatury pokojowej.** Wstępną obróbkę enzymatyczną próbki należy ocenić bezzwłocznie po ukończeniu protokołu hybrydacji. Utrata jąder komórkowych w wyniku nadmiernego trawienia może doprowadzić do braku wybarwienia kontrastowego jąder barwnikiem DAPI oraz braku sygnału lub bardzo słabego sygnału. Niedostateczne trawienie podczas wstępnej obróbki pepsyną może doprowadzić do silnego wybarwienia kontrastowego jąder komórkowych przy braku sygnału w jądrach.
4. Denaturacja sondy w temperaturze niższej niż zalecana w protokole może doprowadzić do braku sygnału lub słabego sygnału.

5. Hybrydyzacja przeprowadzana przez czas krótszy niż zalecany w protokole lub płukanie w surowych warunkach w temperaturach wyższych niż zalecane w protokole może spowodować spadek intensywności lub całkowitą utratę sygnału.

Czasy zalecane dla standardowych typów tkanek:

Typ tkanki	Czas wstępnej obróbki (min)	Trawienie enzymatyczne (min)
Piers	30	10–40
Płuco	25	15–20
Jajnik	20	10
Nerka	20	20–25
Okreźnica	30	20
Komórki Schwanna (tkanka nerwowa)	30	15
Mózg	30	15–18

Optymalne czasy obróbki wstępnej i trawienia są zróżnicowane. Dalsze informacje pomocnicze w zakresie rozwiązywania problemów, a także porady „FISH n’ Tips” i przewodniki techniczne można znaleźć w częściach dotyczących wsparcia na stronie internetowej firmy OGT.

Dodatkowe informacje

W celu uzyskania dodatkowych informacji na temat produktu należy skontaktować się z działem wsparcia technicznego firmy CytoCell.

Tel.: +44 (0)1223 294048










E-mail: techsupport@cytozell.com

Strona WWW: www.ogt.com

Piśmiennictwo

1. Wilkinson, D.G., *In Situ Hybridization, a Practical Approach*. 2nd ed., Oxford university Press, Oxford, (1998).
2. Polak, J.M. and McGee, J. *In Situ Hybridization: Principles and Practice*. Oxford University Press, Oxford, UK, (1998).
3. Verma, R.S and Babu, A. *Human Chromosomes: Principles and Techniques*. 2nd ed., Health Professions Division, New York, (1995).
4. Leitch, A.R. et al. *In Situ Hybridization-A Practical Guide: Royal Microscopy Society Microscopy Handbooks*. Vol 27, Bios Scientific Publishers, Oxford, UK, (1994).

Glosariusz symboli

EN ISO 15223-1:2021 — „Wyroby medyczne — Symbole do stosowania wraz z informacjami dostarczonymi przez producenta — Część 1: Wymagania ogólne” (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Tytuł	Numery referencyjne
	pl: Wytwórca	5.1.1
	pl: Użyć do daty	5.1.4
	pl: Kod partii	5.1.5
	pl: Numer katalogowy	5.1.6
	pl: Dopuszczalna temperatura	5.3.7
	pl: Zajrzyj do instrukcji używania	5.4.3
 ogt.com/CytoCell	pl: Zajrzyj do elektronicznej instrukcji używania	5.4.3
	pl: Ostrzeżenie	5.4.4
Symbole EDMA dla odczynników i składników IVD, wersja: październik 2009 r.		
Symbol	Tytuł	Numery referencyjne
	pl: Zawartość (lub „zawiera”)	ND.

Patenty i znaki towarowe

CytoCell jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy CytoCell Limited.



CytoCell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
WIELKA BRYTANIA

Tel.: +44 (0)1223 294048

Faks: +44 (0)1223 294986

E-mail: probes@cytozell.com

Strona WWW: www.ogt.com

DOZWOLONY ZAKRES UŻYWANIA

Ten produkt jest dostarczany na mocy umowy pomiędzy firmami Life Technologies Corporation i CytoCell Ltd. Zakup tego produktu daje nabywcy niezbywalne prawo do wykorzystania zakupionej ilości produktu wyłącznie do prowadzenia badań naukowych w dziedzinie life science lub badań diagnostycznych u ludzi zgodnie z informacjami określonymi w dokumentacji towarzyszącej produktowi. Sprzedaż niniejszego produktu jest dokonywana na następujących wyraźnie określonych warunkach: nabywca nie będzie używał produktu ani jego składników (1) w procesach produkcyjnych; (2) w celu dostarczania usług, informacji lub danych niepowiązanej z nim stronie trzeciej za opłatą, z wyjątkiem usług związanych z badaniami diagnostycznymi u ludzi; (3) w celach terapeutycznych lub profilaktycznych; (4) w celu odsprzedaży, sprzedaży lub przekazania w inny sposób tego produktu lub jego składników jakiegokolwiek stronie trzeciej albo wykorzystania tego produktu lub jego składników do jakichkolwiek celów innych niż prowadzenie badań naukowych w dziedzinie life science lub badań diagnostycznych u ludzi, niezależnie od tego, czy taki produkt lub jego składniki zostaną odsprzedane jako przeznaczone do użytku w badaniach naukowych lub badaniach diagnostycznych u ludzi. Aby otrzymać informacje na temat uzyskania praw do wykorzystania tego produktu w innych celach, należy wysłać wiadomość e-mail na adres outlicensing@lifetech.com.