



A Sysmex Group Company



Mode d'emploi
RÉF : LPS 100

Kit de prétraitement des tissus (Tissue Pretreatment Kit)

PRODUIT DESTINÉ À UNE UTILISATION GÉNÉRALE EN LABORATOIRE

POUR UTILISATION EN LABORATOIRE

RÉSERVÉ À UN USAGE PROFESSIONNEL



ogt.com/CytoCell

Informations supplémentaires et autres langues disponibles à l'adresse
ogt.com/CytoCell

Usage prévu

Pour une utilisation dans le prétraitement thermique et la digestion enzymatique de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) avant la détection par hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) ou par hybridation *in situ* chromogénique (CISH).

Ce produit est destiné à une utilisation générale en laboratoire ou à une utilisation dans un test développé en laboratoire (LDT). S'il est utilisé dans le cadre d'un LDT, le laboratoire développant le test est responsable de sa validation avant toute utilisation dans un contexte clinique.

Matériel fourni

Réactif 1 (LPS 100A) :

Un litre de solution de prétraitement thermique, pH 7,0 (prêt à l'emploi)

Réactif 2 (LPS 100B) :

Un flacon de 10 ml de réactif enzymatique (contient de la pepsine, prêt à l'emploi)

Avertissements et précautions

- Produit destiné à une utilisation générale en laboratoire. Exclusivement réservé à une utilisation en laboratoire professionnel.
- États-Unis : réactif général (GPR). Pour utilisation en laboratoire.
- Solution de prétraitement thermique : ce produit doit être manipulé avec précaution ; le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
- Réactif enzymatique : contient de la pepsine. Ce produit doit être manipulé avec précaution ; le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
- Ne pas utiliser si le contenu du kit est endommagé ou altéré de quelque manière que ce soit.
- Suivez la réglementation de votre région sur la mise au rebut, ainsi que les recommandations de la fiche de données de sécurité pour déterminer comment mettre ce produit au rebut sans risque. Cela s'applique également au contenu endommagé du kit.
- Éliminez tous les réactifs utilisés et tout autre matériel jetable contaminé conformément aux procédures applicables aux déchets infectieux ou potentiellement infectieux. Il incombe à chaque laboratoire de traiter les déchets solides et liquides en fonction de leur nature et de leur degré de dangerosité, puis de les traiter et de les éliminer (ou de les faire traiter et éliminer) conformément à toute réglementation applicable.
- Le non-respect du protocole décrit peut affecter les performances des réactifs.

Définitions de la température

- 4 °C / 2-8 °C / au réfrigérateur +2 °C à +8 °C
- 37 °C : +37 °C ± 1 °C
- Température ambiante (TA) : +15 °C à +25 °C

Conservation et manipulation

À conserver à 2-8 °C au réfrigérateur jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Matériel et accessoires recommandés, mais non fournis avec le LPS 100

- Bocaux de nettoyage en porcelaine (PCN 009)
- Plaque chauffante (capable d'atteindre et de maintenir 37 °C pendant au moins 30 minutes)
- Bain-marie (capable d'atteindre et de maintenir 98-100 °C pendant au moins 20-30 minutes)
- Hotte/armoire de sécurité (pour l'étape de déparaffinisation)
- Thermomètre à mercure
- Thermomètre à surface glissante (PCN 002)

- Lames de verre (Superfrost ou équivalent, chargées positivement)
- Lamelles de verre (digestion)

Stabilité

Il n'y a pas de signes évidents indiquant l'instabilité de ces réactifs. Ils ont été soumis à un contrôle de qualité afin de garantir des performances constantes et fiables. Ne pas utiliser après la date d'expiration indiquée sur le contenant. Un stockage approprié permet d'éviter toute perte de performance significative. Si les réactifs sont stockés dans des conditions autres que celles spécifiées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur.

Préparation des tissus

Pour des résultats optimaux, il est conseillé d'utiliser des lames chargées (+). Ce kit de prétraitement est destiné à être utilisé après la déparaffinisation et la réhydratation des lames FFPE selon les procédures cytogénétiques standard. Effectuez le prétraitement thermique et la digestion enzymatique conformément aux instructions fournies avec la sonde ISH. La procédure suivante peut être utilisée si les instructions de la sonde ne sont pas disponibles.

Prétraitement thermique

1. Chauffez 50 ml de solution de prétraitement des tissus (réactif 1) dans un bocal de porcelaine ou un bocal de coplin immergé dans un bain-marie jusqu'à ébullition ou obtention d'une température de 98 à 100 °C. Plongez les lames dans l'eau bouillante pendant 30 minutes (remarque : des temps d'incubation différents peuvent être nécessaires en fonction de la fixation des tissus. Nous recommandons de commencer par une incubation de 30 minutes). Remarque : pour des raisons de sécurité, nous vous recommandons d'utiliser des gants doubles et une pince à épiler pour manipuler les lames. Les bocaux de nettoyage en porcelaine (PCN 009) offrent une meilleure stabilité de température que les bocaux coplin traditionnels en verre, et sont moins susceptibles de se briser.

2. Nettoyez dans de l'eau distillée (dH₂O) à température ambiante (TA) 2 x 3 minutes.

Digestion enzymatique

L'enzyme doit être retiré du réfrigérateur et amené à température ambiante avant son utilisation.

- Couvrez le tissu avec le réactif enzymatique* (réactif 2) pendant 10 minutes^A à 37 °C sur une plaque chauffante ou un hybridateur. *la quantité de réactif enzymatique nécessaire peut varier d'un échantillon à l'autre, mais doit être suffisante pour couvrir toute la coupe tissulaire. ^Aselon le fixateur de tissu utilisé, des temps d'incubation différents peuvent être nécessaires. Une digestion excessive entraîne la perte des noyaux et de la structure des chromosomes. Veuillez consulter la section Résolution des problèmes pour plus de détails.
- Remettez le réactif enzymatique au réfrigérateur pour en maintenir la stabilité.

Remarque : veillez à ce que la coupe tissulaire ne se dessèche pas pendant la digestion. Il peut être nécessaire d'ajouter plus de réactif enzymatique pour éviter cela. Veuillez contacter l'équipe d'assistance à l'adresse techsupport@cytocell.com ou consulter la section FISH 'n' Tips du site Web de CytoCell pour des conseils sur la manière d'obtenir un protocole optimal pour les besoins de votre laboratoire.

- Nettoyez dans de l'eau distillée (dH₂O) à TA 3 x 2 minutes.
- Déshydratez les lames dans un mélange d'éthanol à 70 %, 85 %, 100 % et 100 % pendant 2 minutes à température ambiante et laissez-les sécher à l'air libre.

Protocole FISH

Les lames sont maintenant prêtes pour une utilisation de la sonde. Veuillez vous référer au mode d'emploi de la sonde pour plus de détails ou consulter le protocole de votre LDT validé.

Résolution des problèmes

- Tout au long de la procédure, sauf indication contraire, il est important que la coupe tissulaire ne se déshydrate pas.
- Prétraitement thermique (une étape importante pour garantir une bonne performance) :** l'échantillon doit être porté à ébullition ou chauffé à plus de 98 °C pendant 30 minutes dans la solution de prétraitement thermique. Les conditions locales, notamment l'altitude, l'humidité, etc., peuvent affecter le point d'ébullition de la solution.
- Digestion enzymatique (l'étape la plus importante pour garantir une bonne performance) :** des temps d'incubation différents des enzymes (5 à 45 minutes) peuvent être nécessaires, selon le type de tissu et la méthode de fixation. **Pour la plupart des tissus mammaires, 10 minutes de digestion enzymatique à 37 °C donneront les meilleurs résultats. Veillez à préchauffer le réactif de prétraitement enzymatique à la température ambiante avant de l'ajouter à la coupe tissulaire.** Le prétraitement enzymatique de l'échantillon doit être évalué immédiatement après la fin du protocole d'hybridation. Si les noyaux ne sont pas contre-colorés au DAPI et en cas de signal absent ou très faible, cela peut être dû à une perte nucléaire résultant d'une digestion excessive. Si les noyaux sont fortement contre-colorés mais ne présentent aucun signal, cela peut être dû à une sous-digestion lors du prétraitement à la pepsine.
- La dénaturation de la sonde à une température inférieure à celle recommandée par le protocole peut entraîner un signal faible ou absent.
- Une hybridation effectuée pendant des périodes plus courtes, ou des lavages rigoureux effectués à des températures plus élevées que celles recommandées par le protocole peuvent entraîner une diminution ou une perte totale du signal.

Délais recommandés pour les types de tissus courants :

Type de tissu	Temps de prétraitement (minutes)	Digestion enzymatique (minutes)
Mammaire	30	10 – 40
Pulmonaire	25	15 – 20
Ovarien	20	10
Rénal	20	20 – 25
Côlon	30	20
Cellules de Schwann (tissu nerveux)	30	15
Cérébral	30	15 – 18

Les durées optimales de prétraitement et de digestion varient. Vous trouverez d'autres aides à la résolution des problèmes, ainsi que des conseils et des guides techniques FISH n° Tips sur les pages d'assistance du site Web OGT.

Autres renseignements

Pour plus d'informations sur le produit, contactez le service d'assistance technique de CytoCell.

Tél. : +44 (0)1223 294048

Courriel : techsupport@cytozell.com

Site Web : www.ogt.com

Références

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).

Glossaire des symboles

EN ISO 15223-1:2021 – « Dispositifs médicaux – Symboles à utiliser avec les informations à fournir par le fabricant – Partie 1 : Exigences générales » (© Organisation internationale de normalisation 2021)		
Symbole	Titre	Numéro(s) de référence
	fr: Fabricant	5.1.1
	fr: Date de péremption	5.1.4
	fr: Numéro de lot	5.1.5
	fr: Numéro de référence	5.1.6
	fr: Limite de température	5.3.7
	fr: Consulter le mode d'emploi	5.4.3
	fr: Consulter les instructions électroniques	5.4.3
	fr: Mise en garde	5.4.4
Symboles EDMA pour les réactifs et les composants de DIV, révision d'octobre 2009		
Symbole	Titre	Numéro(s) de référence
	fr: Contenu	S.O.

Brevets et marques déposées

CytoCell est une marque déposée de CytoCell Limited.



CytoCell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
ROYAUME-UNI

Tél. : +44 (0)1223 294048

Fax : +44 (0)1223 294986

Courriel : probes@cytozell.com

Site Web : www.ogt.com

LICENCE D'ÉTIQUETTE

Ce produit est fourni dans le cadre d'un accord entre Life Technologies Corporation et CytoCell Ltd. L'achat de ce produit confère à l'acheteur le droit non transférable d'utiliser la quantité achetée du produit uniquement pour la recherche en sciences de la vie ou le diagnostic humain, comme indiqué dans la documentation accompagnant le produit. La vente de ce produit est expressément conditionnée par le fait que l'acheteur n'utilise pas le produit ou ses composants (1) dans la fabrication ; (2) pour fournir un service, des informations ou des données à un tiers non affilié contre paiement autre que des services de tests de diagnostic humain ; (3) à des fins thérapeutiques ou prophylactiques ; (4) pour revendre, vendre ou transférer de toute autre manière ce produit ou ses composants à un tiers, ou l'utiliser à des fins autres que la recherche en sciences de la vie ou le diagnostic humain, que ce produit ou ses composants soient ou non revendus pour être utilisés dans la recherche ou le diagnostic humain. Pour toute information concernant l'obtention des droits d'utilisation de ce produit à d'autres fins, veuillez contacter outlicensing@lifetech.com.