



A Sysmex Group Company



Gebrauchsanweisung
REF: LPS 100

Gewebevorbehandlungs-Kit (Tissue Pretreatment Kit)

PRODUKT ZUR ALLGEMEINEN VERWENDUNG IM LABOR

ZUR VERWENDUNG IM LABOR

NUR FÜR DEN PROFESSIONELLEN GEBRAUCH



ogt.com/CytoCell

Weitere Informationen und andere Sprachen erhältlich unter
ogt.com/CytoCell

Verwendungszweck

Zur Verwendung bei der Wärmevorbehandlung und dem Enzymverdau von Formalin-fixiertem, Paraffin-eingebettetem (FFPE) Gewebe vor dem Nachweis durch Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH) oder Chromogene *in situ*-Hybridisierung (CISH).

Dieses Produkt ist zur allgemeinen Verwendung im Labor oder zur Verwendung in einem Laboratory Developed Test (LDT) bestimmt. Bei Verwendung in einem LDT liegt es in der Verantwortung des den Test entwickelnden Labors, diesen vor der Verwendung im klinischen Setting zu validieren.

Bereitgestelltes Material

Reagenz 1 (LPS 100A):

Ein Liter Wärmevorbehandlungslösung, pH-Wert 7,0 (gebrauchsfertig)

Reagenz 2 (LPS 100B):

Eine 10-ml-Flasche Enzymreagenz (enthält Pepsin, gebrauchsfertig)

Warn- und Sicherheitshinweise

1. Produkt zur allgemeinen Verwendung im Labor. Nur für den professionellen Gebrauch im Labor.
2. USA: Universalreagenz. Zur Verwendung im Labor.
3. Wärmevorbehandlungslösung: Gehen Sie vorsichtig vor; tragen Sie Handschuhe und einen Laborkittel.
4. Enzymreagenz: Enthält Pepsin. Gehen Sie vorsichtig vor; tragen Sie Handschuhe und einen Laborkittel.
5. Verwenden Sie das Kit nicht, wenn sein Inhalt auf irgendeine Weise beschädigt oder kompromittiert ist.
6. Hinweise zur sicheren Entsorgung dieses Produkts finden Sie in den für Ihren Standort geltenden örtlichen Entsorgungsvorschriften sowie den Empfehlungen im Sicherheitsdatenblatt. Dies gilt auch für beschädigte Kit-Inhalte.
7. Entsorgen Sie alle gebrauchten Reagenzien und alle anderen kontaminierten Einwegmaterialien gemäß den Verfahren für infektiösen oder potenziell infektiösen Abfall. Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, feste und flüssige Abfälle entsprechend ihrer Art und ihrem Gefährlichkeitsgrad zu handhaben und sie gemäß den geltenden Vorschriften zu behandeln und zu entsorgen (oder behandeln und entsorgen zu lassen).
8. Die Nichteinhaltung des beschriebenen Protokolls kann die Leistung der Reagenzien beeinträchtigen.

Temperaturdefinitionen

- 4 °C / 2–8 °C / In einem Kühlschrank +2 °C bis +8 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- Raumtemperatur (RT): +15 °C bis +25 °C

Lagerung und Handhabung

Bei 2–8 °C im Kühlschrank bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum lagern.

Materialien und Zubehör empfohlen, aber nicht im Lieferumfang von LPS 100 enthalten

- Waschbehälter aus Porzellan (PCN 009)
- Heizplatte (erreicht und hält 37 °C für mindestens 30 Minuten)
- Wasserbad (erreicht und hält 98–100 °C für mindestens 20–30 Minuten)
- Abzug/Sicherheitswerkbank (für Entparaffinierungsschritt)
- Quecksilber-Thermometer
- Folien-Oberflächenthermometer (PCN 002)

- Objektträger (Superfrost oder ähnlich, positiv geladen)
- Deckgläser (Verdauung)

Stabilität

Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine Instabilität dieser Reagenzien. Ihre Qualität wurde geprüft, um eine konsistente und zuverlässige Leistung zu gewährleisten. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgestempelten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Bei richtiger Lagerung gibt es keinen nennenswerten Leistungsverlust. Wenn die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen gelagert werden, müssen die Bedingungen vom Benutzer überprüft werden.

Gewebevorbereitung

Für optimale Ergebnisse werden (+)-geladene Objektträger empfohlen. Dieses Vorbehandlungskit ist für die Verwendung vorgesehen, nachdem FFPE-Objektträger gemäß zytogenetischen Standardverfahren entparaffiniert und rehydriert wurden. Führen Sie eine Wärmevorbehandlung und eine Enzymverdauung durch, wie in den Anweisungen empfohlen, die mit der ISH-Sonde geliefert werden. Das folgende Verfahren kann verwendet werden, wenn keine Sondenanweisungen verfügbar sind.

Wärmevorbehandlung

1. 50 ml Wärmevorbehandlungslösung (Reagenz 1) wird in einem in ein Wasserbad eingetauchten Waschbehälter aus Porzellan oder Coplin-Behälter erhitzt, bis sie entweder kocht oder 98–100 °C erreicht. Objektträger 30 Minuten kochen (Hinweis: Je nach Gewebefixierung können unterschiedliche Inkubationszeiten erforderlich sein. Eine 30-minütige Inkubation ist ein empfohlener Ausgangspunkt). Hinweis: Aus Sicherheitsgründen empfehlen wir die Verwendung von doppelten Handschuhen und einer Pinzette zur Handhabung der Objektträger. Waschbehälter aus Porzellan (PCN 009) bieten eine bessere Temperaturstabilität als herkömmliche Coplin-Behälter aus Glas und zerbrechen eher weniger.

2. In dH₂O bei Raumtemperatur (RT) für 2 x 3 Minuten waschen.

Enzymverdauung

Vor der Verwendung sollte das Enzym aus dem Kühlschrank genommen und auf Raumtemperatur gebracht werden.

1. Das Gewebe mit Enzymreagenz* (Reagenz 2) für 10 Minuten[^] bei 37 °C auf einer Heizplatte oder einem Hybridisierer abdecken. *Die benötigte Menge an Enzymreagenz kann von Probe zu Probe variieren, sollte aber ausreichen, um den gesamten Gewebeschnitt abzudecken. [^] Je nach verwendetem Gewebefixiermittel können unterschiedliche Inkubationszeiten erforderlich sein. Übermäßige Verdauung führt zum Verlust von Kernen und Chromosomenstruktur. Einzelheiten finden Sie im Abschnitt Fehlerbehebung.
2. Stellen Sie das Enzymreagenz wieder in den Kühlschrank, um die Stabilität zu erhalten.

Hinweis: Stellen Sie sicher, dass der Gewebeschnitt während der Verdauung nicht austrocknet. Möglicherweise muss mehr Enzymreagenz hinzugefügt werden, um dies zu verhindern. Bitte wenden Sie sich an das Support-Team unter techsupport@cytozell.com oder besuchen Sie die Rubrik FISH 'n' Tips auf der CytoCell Website für Tipps, wie Sie ein optimales Protokoll für die Anforderungen Ihres Labors erreichen.

3. In dH₂O bei RT 3 x 2 Minuten waschen.
4. Objektträger in einer Reihe von 70 %, 85 %, 100 % und 100 % Ethanol jeweils 2 Minuten lang bei Raumtemperatur dehydrieren und an der Luft trocknen lassen.

FISH-Protokoll

Die Objektträger sind nun bereit für die Sondenapplikation. Einzelheiten entnehmen Sie bitte der Gebrauchsanweisung der spezifischen Sonde oder konsultieren Sie das Protokoll Ihres eigenen validierten LDT.

Fehlerbehebung

1. Während des gesamten Verfahrens ist es wichtig, dass der Gewebeschnitt nicht austrocknet, sofern nicht anders angegeben.
2. **Wärmevorbehandlung (Ein wichtiger Schritt für eine erfolgreiche Durchführung):** Die Probe muss in Wärmevorbehandlungslösung 30 Minuten lang auf über 98 °C gekocht oder erhitzt werden. Örtliche Bedingungen wie Höhe, Feuchtigkeit usw. können den Siedepunkt der Lösung beeinflussen.
3. **Enzymverdauung (Der wichtigste Schritt für eine erfolgreiche Durchführung):** Je nach Gewebeart und Fixierungsmethode können unterschiedliche Enzyminkubationszeiten (5–45 Minuten) erforderlich sein. **Für die meisten Brustgewebe führt eine 10-minütige Enzymverdauung bei 37 °C zu den besten Ergebnissen. Stellen Sie sicher, dass das Enzym-Vorbehandlungreagenz auf RT vorgewärmt wird, bevor es dem Gewebeschnitt hinzugefügt wird.** Die Enzymvorbehandlung der Probe sollte unmittelbar nach Abschluss des Hybridisierungsprotokolls bewertet werden. Wenn Zellkerne nicht mit DAPI gefärbt sind und ein fehlendes oder sehr schwaches Signal vorhanden ist, kann dies auf Kernmaterialverlust infolge übermäßiger Verdauung zurückzuführen sein. Wenn die Kerne stark gefärbt sind, aber kein Signal in den Kernen vorhanden ist, kann dies auf eine Unterverdauung während der Pepsin-Vorbehandlung zurückzuführen sein.
4. Sonden-denaturierung bei einer niedrigeren Temperatur als im Protokoll empfohlen kann zu einem schwachen oder fehlenden Signal führen.
5. Eine Hybridisierung, die für kürzere Zeiträume durchgeführt wird, oder stringente Waschvorgänge, die bei höheren Temperaturen als im Protokoll empfohlen durchgeführt werden, kann zu einer Verringerung oder einem vollständigen Verlust des Signals führen.

Empfohlene Zeiteinstellungen für die häufigsten Gewebearten:

Gewebeart	Vorbehandlungszeit (min)	Enzymverdauung (min)
Brust	30	10–40
Lunge	25	15–20
Eierstock	20	10
Niere	20	20–25
Darm	30	20
Schwannsche Zellen (Nervengewebe)	30	15
Gehirn	30	15–18

Optimale Vorbehandlungs- und Verdauungszeiten variieren. Weitere Hilfe zur Fehlerbehebung sowie Ratschläge und technische Leitfäden zu FISH n' Tips finden Sie auf den Support-Seiten der OGT-Website.

Zusätzliche Informationen

Für weitere Produktinformationen wenden Sie sich bitte an den technischen Support von CytoCell.

Tel.: +44 (0)1223 294048

E-Mail: techsupport@cytoCell.com

Web: www.ogt.com

Referenzen

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).

Symbolerklärung

EN ISO 15223-1:2021 - „Medizinprodukte - Symbole, die in Verbindung mit vom Hersteller bereitzustellenden Informationen zu verwenden sind - Teil 1: Allgemeine Anforderungen“ (© International Organization for Standardization 2021)		
Symbol	Titel	Referenznummer(n)
	de: Hersteller	5.1.1
	de: Verwendbar bis	5.1.4
	de: Chargenbezeichnung	5.1.5
	de: Katalognummer	5.1.6
	de: Temperaturgrenze	5.3.7
	de: Gebrauchsanweisung beachten	5.4.3
	de: Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	5.4.3
	de: Vorsicht	5.4.4
EDMA-Symbole für IVD-Reagenzien und Komponenten, Revision Oktober 2009		
Symbol	Titel	Referenznummer(n)
	de: Inhalt (oder enthält)	n. z.

Patente und Warenzeichen

CytoCell ist eine eingetragene Marke von CytoCell Limited.



CytoCell Limited

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

Tel.: +44 (0)1223 294048

Fax: +44 (0)1223 294986

E-Mail: probes@cytoCell.com

Web: www.ogt.com

MARKENLIZENZ

Dieses Produkt wird im Rahmen einer Vereinbarung zwischen Life Technologies Corporation und CytoCell Ltd. bereitgestellt. Der Kauf dieses Produkt überträgt dem Käufer das nicht übertragbare Recht, die gekaufte Menge des Produkts nur für die biowissenschaftliche Forschung oder Humandiagnostik zu verwenden, wie in der begleitenden Produktliteratur dargelegt. Der Verkauf dieses Produkts ist ausdrücklich davon abhängig, dass der Käufer das Produkt oder seine Komponenten nicht (1) in der Herstellung; (2) zur Bereitstellung eines Dienstes, von Informationen oder Daten für einen unabhängigen Dritten gegen Bezahlung, mit Ausnahme von Humandiagnostik-Testdiensten; (3) zu therapeutischen oder prophylaktischen Zwecken; (4) zum Weiterverkauf, Verkauf oder zur anderweitigen Übertragung dieses Produkt oder seiner Komponenten an Dritte oder für andere Zwecke als die Verwendung in der biowissenschaftlichen Forschung oder Humandiagnostik, unabhängig davon, ob ein solches Produkt oder seine Komponenten zur Verwendung in der Forschung oder Humandiagnostik weiterverkauft werden oder nicht, verwendet. Kontaktieren Sie outlicensing@lifetech.com für Informationen zum Erwerb von Nutzungsrechten für dieses Produkt für jeden anderen Zweck.