

Shandon Cytoblock® Cell Block Preparation System



Thermo
ELECTRON CORPORATION

Anatomical Pathology USA
Clinical Diagnostics
171 Industry Drive
Pittsburgh, PA 15275, USA
Tel: 1-800-547-7429
+1 412 788 1133
Fax: +1 412 788 1138
www.thermo.com/shandon

Anatomical Pathology International
Clinical Diagnostics
93-96 Chadwick Road
Astmoor, Runcorn
Cheshire, WA7 1PR, UK
Tel: +44 (0) 1928 566611
Fax: +44 (0) 1928 565845
www.thermo.com/shandon

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE

Contents

1. Introduction

- 1.1 Introduction to Cytoblock
- 1.2 Cytoblock applications

2. The Cytoblock Kit

3. Using Cytoblock to Prepare Cell Blocks

- 3.1 Cytospin® preparations of cytological specimens
- 3.2 Cytoblock preparations from biopsies & tissue fragments

4. Trouble-Shooting Guide

5. Specifications

- 5.1 Appendix
- 5.2 Parts list

WARNINGS AND PRECAUTIONS

See Material Safety Data Sheets for warnings and precautions, as well as R & S code definitions. The following symbols are used on the product labels and packaging:



Definitions are at the rear of this booklet

SHANDON CYTOBLOCK CELL BLOCK PREPARATION SYSTEM

NOTE: Please read instruction manual carefully before using this kit. The gel produced is **not** compatible with fixatives containing phosphates. Thermo Electron Anatomical Pathology recommends unbuffered formal saline or Shandon Formal-Fixx™

1. INTRODUCTION

1.1 Introduction to Cytoblock®

The Shandon Cytoblock system is designed to facilitate the preparation of paraffin-embedded cell suspensions, cell aggregates, and tissue fragments. The Cytoblock system simplifies the production of paraffin blocks from cellular material, and increases the yield of useful blocks from cellular suspensions and cell aggregates. The Cytoblock system can also be used to process tissue biopsies and fragments which are difficult or impossible to process using other techniques. Preparation of cell blocks with the Cytoblock system is so simple and reliable that retention of a paraffin-embedded block for every cytological sample is a practical laboratory procedure.

1.2 Cytoblock® intended use

Cytoblock can be used to produce paraffin-embedded blocks from fine needle aspirates, cutting needle cores, body fluids, and residual sediment from other cytological preparations. Cytoblock is also an ideal method for processing tissue fragments such as small biopsies, curettings, and other specimens which are too small to be processed in standard cassettes. The use of the Cytoblock system eliminates the need for tea bags, tissue wrapping, and the potential loss of tiny fragments.

2. The Cytoblock Kit

The Cytoblock kit contains:

50 Cytoblock Cassettes - complete with backing papers and board inserts

1 Cytoblock Reagent 1 (clear fluid)

1 Cytoblock Reagent 2 (colored fluid)

The Cytoblock cassettes come preassembled with backing papers and board inserts in place. The Cytoblock kit components are designed to be used with the Shandon Cytospin to process cell suspensions and aggregates. The Cytoblock kit components can be used alone to process tissue fragments and biopsies. After processing the Cytoblock, the Cytoblock cassette is used to form a paraffin base, with clamping dimensions identical to a standard tissue cassette. The Cytoblock cassette can be used with standard cassette base molds during paraffin embedding.

3. Using Cytoblock to Prepare Cell Blocks

3.1 Cytospin preparations of cytological specimens

1. Record patient information on Cytoblock.
2. Specimen should be fixed prior to beginning Cytoblock preparation in the Cytospin.
3. Concentrate the fixed cells by centrifugation, pour off excess fluid and drain.
4. Estimate amount of specimen present. If the total amount of specimen is 2 drops or less, add 4 drops of REAGENT 2 to the specimen pellet and mix by vortexing or by repeated aspiration. If the specimen quantity is larger than 2 drops, you will have to decide if you wish to make more than one block. Each block should have 2 drops of specimen or less. If you have enough specimen for two blocks, you can add 8 drops of Reagent 2 and mix by vortexing. [The mixture will be divided equally between two (2) Cytofunnel® disposable sample chambers at step 9.]
5. Assemble Cytoblock cassette into Cytoclip®, with Cytoclip horizontal. The locating peg on the back of the Cytoblock cassette fits into the hole in the Cytoclip to ensure proper orientation.
6. Apply 3 drops of REAGENT 1 into the center of the well in the board insert. Reagent 1 should coat the entire circumference of the well in the board insert. Use care to avoid any Reagent 1 on the top surface of the board insert.

7. With the backing paper projecting toward the top of the Cytoclip, place a Cytofunnel disposable chamber over the prepared CytoBlock and secure the metal clip holder in the usual manner.
8. Place the assembled Cytoclip into the Cytospin Sealed Head.
9. Place the mixed cell suspension in each Cytofunnel.
10. Close the Cytospin and set for five (5) minutes at 1500 rpm. Use the LOW acceleration setting. Start Cytospin.
11. When the Cytospin stops, remove the Cytofunnel assemblies and place horizontally. Release the clip and remove the funnels. Removal is facilitated by rocking the funnel to the side to separate the funnel assembly from the underlying board insert. Be certain the cell button is in the well, and has not adhered to the funnel. Discard the funnel.
12. Place one drop of Reagent 1 in the center of the insert board well, on top of the cell button. Close the CytoBlock cassette and place in fixative to await processing.

NOTE: Fixative should be UNBUFFERED (try Shandon Formal-Fixx) or the first processing alcohol.

WARNING: DO NOT USE PHOSPHATE-BUFFERED solutions during any processing step.

13. Process cassettes in standard tissue processor.
14. At embedding, open CytoBlock cassette. Fold back paper and remove board insert. The board insert can be removed easily from the CytoBlock cassette by inserting the tips of fine forceps through any of the holes under the insert.
15. Dislodge cell button into base mold and embed flat. Discard the board insert and backing paper.
16. Re-close CytoBlock cassette and place FLAT SIDE UP (round peg side down) on top of base mold. Fill with paraffin.
17. Handle as with any paraffin block. Use caution when sectioning, since the cell button is thin and can be quickly used up by excessive trimming.

NOTE: Sections derived from CytoBlock embedded specimens retain the gel matrix around the cells. This matrix may stain faintly with some stains. It can be completely removed by a brief (3 to 5 minutes) rinse in phosphate-buffered saline (PBS, pH 6.8-7.2) prior to staining (but after removal of paraffin). A formulation for PBS is included in the appendix to these instructions.

3.2 CytoBlock preparations from biopsies and tissue fragments.

1. Specimen should be fixed prior to beginning CytoBlock preparation.
2. Place a CytoBlock cassette with backing paper and board insert horizontally on towel.
3. Apply 3 drops of Reagent 1 into the center of the well in the board insert.
4. Arrange tissue fragments in the board well. The surface tension of Reagent 1 will permit specimens to be oriented as desired.
5. Add sufficient quantity of Reagent 2 to completely fill the well containing the tissue, no more than 4 drops. You may perform further orientation of specimens as the gel begins to solidify. This must be done quickly, before the gel becomes too rigid.
6. Put one drop of Reagent 1 in the center of the insert well, on top of the gel button. Close the CytoBlock cassette and place in fixative to await processing.

NOTE: Fixative should be UNBUFFERED (try Shandon Formal-Fixx) or the first processing alcohol.

WARNING: DO NOT USE PHOSPHATE-BUFFERED solutions during any processing step.

7. Process cassettes in standard tissue processor.
8. At embedding, open Cytoblock cassette. Fold back paper cover and remove board insert. The insert may be removed by inserting the tips of fine forceps through the holes in the back of the Cytoblock cassette under the insert.
9. Dislodge gel button containing tissue fragments and place into embedding mold. Discard the board insert and the backing paper.
10. Re-close Cytoblock cassette and place FLAT SIDE UP (round peg side down) on top of the base mold. Fill with paraffin.
11. Handle as a standard paraffin block.

NOTE: Sections derived from Cytoblock embedded specimens retain the gel matrix around the tissue fragments. This matrix may stain faintly with some stains. It can be completely removed by a brief (3 to 5 minutes) rinse in phosphate-buffered saline (PBS, pH 6.8-7.2) prior to staining (but after removal of paraffin).

4. Trouble-Shooting Guide

1. **Inadequate cell numbers-** Pre-centrifugation of cellular suspensions ensures a concentrated specimen. When few cells are present, and the specimen must be extended with Reagent 2, cells may be widely separated when the resulting mixture is placed in the Cytofunnel disposable sample chamber. Inadequate cell numbers reflect an inadequate specimen, and care must be taken to conserve as many cells as possible prior to using the Cytoblock system.
2. **Few cells in block, but many in specimen-** Cell sample should be mixed with Reagent 2 before the cell sample comes in contact with the board insert. Be certain the sample is well mixed with Reagent 2 prior to beginning cytocentrifugation. This precaution, along with care in wetting the bottom and sides of the insert well prior to assembly of the Cytoclip-funnel assembly, will ensure that cells are captured in the gel button, and do not have an opportunity to lodge in the Cytofunnel filter card or board insert prior to gel formation.
3. **Inadequate fixation-** Prior fixation of specimens before using the cell block system, plus the usual fixation action of the various processor stations should prevent any problems of inadequate fixation. However, if the specimen is not fixed until some time after collection, cell degeneration may proceed to the point where the result appears to be inadequate fixation.
4. **Loss of integrity of gel buttons containing cells or fragments-** The polymeric material is very stable to most organic solvents and hot wax. It is slowly depolymerized by chelating agents, such as EDTA, and in the presence of phosphate ions, as in phosphate-buffered formalin. Gel buttons made using the Cytoblock system should not be exposed to solutions containing these depolymerizing agents.

5. SPECIFICATIONS

5.1 Appendix:

PHOSPHATE-BUFFERED SALINE			
Sodium Chloride	7.90g	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	0.58g
Na ₂ HPO ₄	1.53g	Distilled Water	1 Liter

ZUR IN- VITRO- DIAGNOSTIK

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung

- 1.1 Einführung in das Cytoblock System
- 1.2 Anwendungen des Cytoblock Systems

2. Der Cytoblock-Kit

3. Verwendung des Cytoblock Systems zur Präparation von Zellblöcken

- 3.1 Präparationen zytologischer Proben mit Cytospin®
- 3.2 Präparationen von Biopsien und Gewebsfragmenten mit Cytoblock

4. Anleitung zur Fehlerbehebung

5. Spezifikationen

- 5.1 Anhang
- 5.2 Artikelliste

WARNHINWEISE UND SICHERHEITSMASSNAHMEN

Die Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen sind im Sicherheitsdatenblatt sowie in den R- und S-Sätzen enthalten. Folgende Symbole finden auf den Produktetiketten und der Verpackung Verwendung:



Die Definitionen befinden sich auf der Rückseite der Gebrauchsanweisung.

SHANDON CYTOBLOCK PRÄPARATIONSSYSTEM FÜR ZELLBLÖCKE

HINWEIS: Die Gebrauchsanweisung bitte vor dem Gebrauch des Kits gründlich durchlesen. Das erzeugte Gel ist **nicht** mit Fixiermitteln kompatibel, die Phosphate enthalten. Thermo Electron Anatomical Pathology empfiehlt ungepufferte Formalinsalzlösung oder Shandon Formal-Fixx™.

1. EINFÜHRUNG

1.1 Einführung in das Cytoblock® System

Das Shandon Cytoblock System wurde dazu entwickelt, die Präparation von Paraffin-eingebetteten Zellsuspensionen, Zellaggregaten und Gewebefragmenten zu erleichtern. Das Cytoblock System vereinfacht die Erzeugung von Paraffinblöcken aus dem Zellmaterial und erhöht die Ausbeute an verwendbaren Blöcken aus Zellsuspensionen und Zellaggregaten. Das Cytoblock System kann ebenfalls zur Bearbeitung von Gewebebiopsien und –fragmenten verwendet werden, deren Bearbeitung mit anderen Verfahren schwierig oder gar unmöglich ist. Die Präparation der Zellblöcke mit dem Cytoblock System ist so einfach und zuverlässig, dass ein Aufbewahren eines Paraffin-eingebetteten Blocks für jede zytologische Probe ein praktisches Laborverfahren darstellt.

1.2 Cytoblock® Verwendungszweck

Das Cytoblock System kann zur Herstellung Paraffin-eingebetteter Blöcke aus Feinnadelaspiraten, Schneidnadeln, Körperflüssigkeiten und Restsedimenten aus anderen zytologischen Präparationen verwendet werden. Das Cytoblock System ist ebenfalls ein ideales Verfahren zur Bearbeitung von Gewebefragmenten, wie beispielsweise kleineren Biopsien, Kürettagen und anderen Proben, die zu klein sind, um in Standardkassetten bearbeitet zu werden. Die Verwendung des Cytoblock Systems macht den Bedarf an Teebeuteln und Gewebeumhüllung überflüssig und eliminiert den möglichen Verlust von Haarfragmenten.

2. Der Cytoblock-Kit

Der Cytoblock-Kit enthält:

- 50 Cytoblock Kassetten – komplett mit Trägerpapier und Platteneinsätzen
- 1 Cytoblock Reagenz 1 (klare Flüssigkeit)
- 1 Cytoblock Reagenz 2 (gefärbte Flüssigkeit)

Die Cytoblock Kassetten werden vormontiert mit Trägerpapier und Platteneinsätzen geliefert. Die Komponenten des Cytoblock-Kits wurden zur Verwendung mit Shandon Cytospin entwickelt, um Zellsuspensionen und –aggregate zu bearbeiten. Die Komponenten des Cytoblock-Kits können auch allein verwendet werden, um Gewebefragmente und –biopsien zu bearbeiten. Nach der Bearbeitung des Cytoblocks wird die Cytoblock Kassette zur Herstellung einer Paraffinbasis verwendet, welche die gleichen Abmessungen der Klemme einer Standardgewebekassette hat. Die Cytoblock Kassette kann während der Paraffin-Einbettung mit Standardkassetten für Einbettformen verwendet werden.

3. Verwendung des Cytoblock Systems zur Präparation von Zellblöcken

3.1 Präparationen zytologischer Proben

1. Notieren Sie die Patientendaten auf dem Cytoblock.
2. Die Proben sollten vor dem Beginn der Cytoblock Präparation in Cytospin fixiert werden.
3. Die fixierten Zellen durch Zentrifugieren konzentrieren, den Überstand abgießen und abfließen lassen.
4. Die vorliegende Probenmenge schätzen. Wenn die Probengesamtmenge 2 Tropfen oder weniger beträgt, 4 Tropfen des REAGENZ 2 auf das Probekügelchen geben und durch einen Rührer oder wiederholte Aspiration mischen. Bei einer Probenmenge von mehr als 2 Tropfen muss entschieden werden, ob mehr als ein Block hergestellt werden soll. Jeder Block sollte höchstens zwei Tropfen haben. Steht genug Probenmaterial für mehr als zwei Blocks zur Verfügung, können 8 Tropfen des Reagenz 2 hinzu gegeben werden. Sodann durch Rühren mischen. [Die Mischung wird zu gleichen Teilen zwischen den beiden (2) Cytofunnel® Einweg-Probenkammern unter Schritt 9 aufgeteilt.]
5. Die Cytoblock Kassette in den Cytoclip® schieben, wobei der Cytoclip horizontal bleiben muss. Der Fixierstift auf der Rückseite der Cytoblock Kassette passt in das Loch des Cytoclip, um die richtige Ausrichtung zu garantieren.
6. 3 Tropfen des REAGENZ 1 in die Mitte der Vertiefung des Platteneinsatzes geben. Das Reagenz 1 sollte den gesamten Umfang der Vertiefung des Platteneinsatzes beschichten. Es ist äußerster Sorgfalt erforderlich, damit kein Reagenz 1 auf die Oberfläche des Platteneinsatzes gelangt.

7. Das Trägerpapier sollte zur Oberfläche des Cytoclip zeigen. Eine Cytofunnel Einweg-Kammer über dem präparierten Cytoblock platzieren und den Metallklemmenhalter auf die gewöhnliche Art befestigen.
8. Den zusammengebauten Cytoclip in den versiegelten Cytospin Kopf einlegen.
9. Die gemischte Zellsuspension in jeden Cytofunnel geben.
10. Den Cytospin schließen und für fünf (5) Minuten auf 1.500 U/min einstellen. Die Einstellung für NIEDRIGE Beschleunigung verwenden. Den Cytospin starten.
11. Wenn der Cytospin anhält, das Zubehör des Cytofunnel entfernen und horizontal platzieren. Die Klemme lösen und die Fülltrichter entfernen. Die Entfernung wird durch zur Seite Schwingen des Fülltrichters erleichtert, um den zusammengebauten Fülltrichter von dem darunter liegenden Platteneinsatz zu trennen. Sicherstellen, dass sich der Zellniederschlag in der Vertiefung befindet und nicht an den Fülltrichter anhaftet. Den Fülltrichter entsorgen.
12. Einen Tropfen des Reagenz 1 in die Mitte der Vertiefung des Platteneinsatzes und oben auf den Zellniederschlag geben. Die Cytoblock Kassette schließen und das Fixiermittel platzieren. Sodann die Bearbeitung abwarten.

HINWEIS: Das Fixiermittel sollte UNGEPUFFERT (versuchen Sie Shandon Formal-Fixx) oder der erste Prozessalkohol sein.

WARNUNG: KEINE PHOSPHAT-GEPUFFERTEN Lösungen während der Prozessschritte verwenden.

13. Die Kassetten in einem Standardgewebeprozessor bearbeiten.
14. Bei der Einbettung die Cytoblock Kassette öffnen. Das Papier zurückschlagen und den Platteneinsatz entfernen. Der Platteneinsatz kann einfach aus der Cytoblock Kassette entfernt werden, indem die Spitzen der Feinscheren durch die Löcher unter dem Einsatz gesteckt werden.
15. Den Zellniederschlag in die Einbettform geben und glätten. Den Platteneinsatz und das Trägerpapier entsorgen.
16. Die Cytoblock Kassette erneut schließen und die PLANPLATTE NACH OBEN (runde Stiftseite nach unten) auf der Einbettform platzieren. Mit Paraffin auffüllen.
17. Wie jeden Paraffinblock handhaben. Bei der Herstellung von Schnitten mit größter Vorsicht vorgehen, da die Zellniederschläge dünn sind und schnell durch übermäßiges Beschneiden verbraucht werden können.

HINWEIS: Aus in den Cytoblock eingebettete Proben stammende Schnitte behalten die Gelmatrix um die Zellen herum bei. Diese Matrix kann bei bestimmten Färbemitteln zu schwachen Färbungen führen. Sie kann vollständig durch eine kurze (3 bis 5 Minuten dauernde) Spülung in phosphatgepufferter Lösung (PBS, pH 6,8-7,2) vor der Färbung (aber nach der Entfernung des Paraffins) entfernt werden. Eine mögliche PBS-Zusammensetzung ist im Anhang dieser Anweisungen enthalten.

3.2 Präparationen von Biopsien und Gewebsfragmenten mit Cytoblock

1. Die Proben sollten vor dem Beginn der Cytoblock Präparation fixiert werden.
2. Die Cytoblock Kassette mit Trägerpapier und horizontalen Platteneinsatz auf einem Tuch platzieren.
3. 3 Tropfen des Reagenz 1 in die Mitte der Vertiefung des Platteneinsatzes geben.
4. Die Gewebefragmente im Platteneinsatz anordnen. Die Oberflächenspannung von Reagenz 1 macht es möglich, die Proben wie gewünscht zu orientieren.
5. Eine ausreichende Menge von Reagenz 2 hinzugeben, um die das Gewebe enthaltende Vertiefung vollständig aufzufüllen. Nicht mehr als 4 Tropfen hinzugeben. Eine weitere Ausrichtung der Proben kann durchgeführt werden, wenn das Gel beginnt, sich zu verfestigen. Dies muss schnell erfolgen, bevor das Gel zu hart wird.
6. Einen Tropfen des Reagenz 1 in die Mitte der Vertiefung des Platteneinsatzes und oben auf den Gelniederschlag geben. Die Cytoblock Kassette schließen und das Fixiermittel platzieren. Sodann die Bearbeitung abwarten.

HINWEIS: Das Fixiermittel sollte UNGEPUFFERT (versuchen Sie Shandon Formal-Fixx) oder der erste Prozessalkohol sein.

WARNUNG: KEINE PHOSPHAT-GEPUFFERTEN Lösungen während der Prozessschritte verwenden.

7. Die Kassetten in einem Standardgewebeprozessor bearbeiten.
8. Bei der Einbettung die Cytoblock Kassette öffnen. Die Papierabdeckung zurückschlagen und den Platteneinsatz entfernen. Der Platteneinsatz kann entfernt werden, indem die Spitzen der Feinscheren durch die Löcher auf der Rückseite der Cytoblock Kassette unter dem Einsatz gesteckt werden.
9. Den Gelniederschlag, der die Gewebefragmente enthält, herausnehmen und in die Einbettform geben. Den Platteneinsatz und das Trägerpapier entsorgen.
10. Die Cytoblock Kassette erneut schließen und die PLANPLATTE NACH OBEN (runde Stiftseite nach unten) auf der Einbettform platzieren. Mit Paraffin auffüllen.
11. Wie einen Standardparaffinblock handhaben.

HINWEIS: Aus in den Cytoblock eingebettete Proben stammende Schnitte behalten die Gelmatrix um die Zellen herum bei. Diese Matrix kann bei bestimmten Färbemitteln zu schwachen Färbungen führen. Sie kann vollständig durch eine kurze (3 bis 5 Minuten dauernde) Spülung in phosphatgepufferter Lösung (PBS, pH 6,8-7,2) vor der Färbung (aber nach der Entfernung des Paraffins) entfernt werden.

4. Anleitung zur Fehlerbehebung

1. **Nicht ausreichende Zellanzahl** - Eine Präzentrifugation der Zellsuspensionen gewährleistet eine konzentrierte Probe. Sind wenige Zellen vorhanden und die Probe muss mit Reagenz 2 ausgedehnt werden, können die Zellen stark separiert sein, wenn die daraus resultierende Mischung in die Cytofunnel Einweg-Probenkammer gegeben wird. Eine nicht ausreichende Zellanzahl spiegelt eine ungenügende Probe wieder, und es muss große Sorgfalt walten, um so viele Zellen wie möglich zu konservieren, bevor das Cytoblock System verwendet wird.
2. **Wenige Zellen im Block, aber viele in der Probe** - Die Zellprobe sollte mit Reagenz 2 gemischt werden, bevor die Zellprobe mit dem Platteneinsatz in Kontakt kommt. Sicherstellen, dass die Probe gut mit Reagenz 2 gemischt ist, bevor die Zytozentrifugation begonnen wird. Diese Sicherheitsmaßnahme, zusammen mit der Vorsicht bei der Einbettung von Boden und Seite der Plattenvertiefung, vor dem Zusammenbau mit dem zusammengebauten Cytoclip Fülltrichter, stellt sicher, dass die Zellen vom Gelniederschlag erfasst werden und keine Möglichkeit haben, in das Cytofunnel Filterpapier oder den Platteneinsatz zu gelangen, bevor sich das Gel bildet.
3. **Ungenügende Fixierung** - Vor der Fixierung der Proben und bevor das Zellblocksystem verwendet wird und die üblichen Fixierungen der verschiedenen Prozessorstationen durchgeführt werden, sollten alle Probleme einer ungenügenden Fixierung vermieden werden. Wenn die Probe jedoch nicht innerhalb eines bestimmten Zeitraums nach der Entnahme fixiert ist, kann die Zelldegeneration bis zu dem Punkt fortschreiten, an dem das Ergebnis einer ungenügenden Fixierung entspricht.
4. **Integritätsverlust von Gelniederschlägen, die Zellen oder Fragmente enthalten** - Das polymerische Material ist sehr stabil gegenüber den meisten organischen Lösungsmitteln und Heißwachs. Es wird langsam durch Chelate, wie beispielsweise EDTA, und in Gegenwart von Phosphationen, wie beim Phosphat-gepufferten Formalin, depolymerisiert. Die mit dem Cytoblock System hergestellten Gelniederschläge sollten nicht Lösungen ausgesetzt werden, die diese depolymerisierenden Agenzien enthalten.

5. SPEZIFIKATIONEN

5.1 Anhang:

PHOSPHAT-GEPUFFERTES SALZ

Natriumchlorid	7,90 g	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	0,58 g
Na ₂ HPO ₄	1,53 g	Destilliertes Wasser	1 Liter

PARA USO EN DIAGNÓSTICOS IN VITRO

Contenido

1. Introducción

- 1.1 Introducción a Cytoblock
- 1.2 Aplicaciones de Cytoblock

2. El kit de Cytoblock

3. Uso de Cytoblock para preparar bloques de células

- 3.1 Preparaciones de Cytospin® de muestras citológicas
- 3.2 Preparaciones de Cytoblock de biopsias y fragmentos de tejido

4. Guía de solución de problemas

5. Especificaciones

- 5.1 Apéndice
- 5.2 Lista de componentes

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Consulte las hojas de datos de seguridad de materiales para saber las advertencias y precauciones, así como la definición de los códigos de riesgos y seguridad. En las etiquetas y envases de los productos se utilizan los siguientes símbolos:



Su definición se detalla al final de este folleto.

SISTEMA DE PREPARACIÓN DE BLOQUES DE CÉLULAS SHANDON CYTOBLOCK

NOTA: Lea detenidamente el manual de instrucciones antes de utilizar este kit. El gel producido **no** puede utilizarse con fijadores que contienen fosfatos. Thermo Electron Anatomical Pathology recomienda el uso de salino tradicional no tamponado o Shandon Formal-Fixx™.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción a Cytoblock®

El sistema Shandon Cytoblock está destinado a facilitar la preparación de suspensiones de células incrustadas en parafina, agregados de células y fragmentos de tejido. Este sistema simplifica la producción de bloques de parafina a partir de material celular y aumenta la producción de bloques útiles a partir de suspensiones celulares y agregados de células. El sistema Cytoblock también puede emplearse para preparar biopsias y fragmentos de tejido que son difíciles o imposibles de preparar con otras técnicas. La preparación de bloques de células con el sistema Cytoblock es tan sencilla y fiable que la absorción de un bloque incrustado en parafina por cada muestra citológica es un procedimiento de laboratorio práctico.

1.2 Aplicaciones de Cytoblock®

Cytoblock puede emplearse para producir bloques incrustados en parafina a partir de aspiraciones con aguja fina, perforaciones con aguja cortante, fluidos biológicos y el sedimento residual procedente de otras preparaciones citológicas. Cytoblock también es el método ideal para la preparación de fragmentos de tejido como pequeñas biopsias, legrados y otras muestras que son demasiado pequeñas para prepararlas en cajas estándar. Con el sistema Cytoblock ya no es necesario utilizar bolsas de té ni envolver el tejido, y tampoco se pierden fragmentos de tejido.

2. El kit de Cytoblock

El kit de Cytoblock contiene:

- 50 cajas de Cytoblock (con papeles de respaldo y separadores de cartón) 1 reactivo
- 1 Cytoblock (fluido transparente) 1 reactivo
- 2 Cytoblock (fluido de color)

Las cajas de Cytoblock vienen montadas con papeles de respaldo y separadores de cartón colocados en su lugar. Los componentes del kit de Cytoblock están destinados a su uso con Shandon Cytospin para la preparación de suspensiones y agregados de células. Estos componentes se pueden utilizar por separado para preparar biopsias y fragmentos de tejido. Tras la preparación de Cytoblock, la caja de Cytoblock se utiliza para formar una base de parafina, con dimensiones de sujeción idénticas a las de una caja para tejido estándar. La caja de Cytoblock puede emplearse con moldes básicos de caja estándar durante la incrustación en parafina.

3. Uso de Cytoblock para preparar bloques de células

3.1 Preparaciones de Cytospin de muestras citológicas

1. Registre la información del paciente en Cytoblock.
2. La muestra debe fijarse antes del inicio de la preparación de Cytoblock en el Cytospin.
3. Concentre las células fijadas mediante centrifugación, quite el exceso de fluido y drene.
4. Calcule la cantidad de muestra obtenida. Si la cantidad total de muestra es 2 gotas o menos, añada 4 gotas de REACTIVO 2 a la muestra y mezcle todo con un vórtex o con aspiraciones repetidas. Si la cantidad de muestra es superior a 2 gotas, deberá decidir si desea producir más de un bloque. Cada bloque debe tener 2 gotas de muestra o menos. Si tiene muestra suficiente para dos bloques, puede añadir 8 gotas de Reactivo 2 y mezclar todo con un vórtex. [La mezcla se dividirá por igual en dos (2) cámaras de muestra desechables Cytofunnel® en el paso 9.]
5. Monte la caja de Cytoblock en el Cytoclip®, con éste en horizontal. El pivote de colocación situado en la parte posterior de la caja de Cytoblock encaja en el orificio del Cytoclip para asegurar la orientación correcta.
6. Aplique 3 gotas de REACTIVO 1 en el centro de la cavidad en el separador de cartón. El Reactivo 1 deberá cubrir toda la circunferencia de la cavidad en el separador. Tenga cuidado para evitar que caiga parte del Reactivo 1 sobre la superficie del separador.
7. Con el papel de respaldo proyectado hacia la parte superior del Cytoclip, coloque una cámara desechable Cytofunnel sobre la preparación de Cytoblock y fije el soporte de fijación metálico de la manera habitual.
8. Coloque el Cytoclip montado en el cabezal sellado del Cytospin.

9. Coloque la suspensión de células mezclada en cada Cytospin.
10. Cierre el Cytospin y ajuste para cinco (5) minutos a 1500 rpm. Utilice el ajuste de aceleración LOW (Bajo). Inicie el Cytospin.
11. Cuando el Cytospin se detenga, quite las cámaras Cytospin montadas y colóquelo en horizontal. Libere la presilla y quite los embudos. La extracción se facilita al desplazar el embudo hacia el lado para apartarlo del separador de cartón subyacente. Asegúrese de que el botón de células está en la cavidad y no se ha adherido al embudo. Tire el embudo.
12. Coloque una gota de Reactivo 1 en el centro de la cavidad del separador de cartón, encima del botón de células. Cierre la caja de Cytoblock y colóquela en un fijador a la espera de su preparación.

NOTA: El fijador debe estar NO TAMPONADO (pruebe con Shandon Formal-Fixx o el primer alcohol de tratamiento).

ADVERTENCIA: NO UTILICE SOLUCIONES TAMPONADAS CON FOSFATOS durante ninguna etapa de la preparación.

13. Procese las cajas en un procesador de tejidos estándar.
14. En la incrustación, abra la caja de Cytoblock. Doble el papel y quite el separador de cartón. El separador de cartón se puede quitar fácilmente de la caja de Cytoblock insertando las puntas de unas pinzas finas por cualquiera de los orificios que hay debajo del separador.
15. Extraiga el botón de células para colocarlo en el molde básico e incruste por la parte plana. Tire el separador de cartón y el papel de respaldo.
16. Vuelva a cerrar la caja de Cytoblock y colóquela con la PARTE PLANA HACIA ARRIBA (lado del pivote redondo hacia abajo) encima del molde básico. Rellene con parafina.
17. Trátele como cualquier bloque de parafina. Tenga cuidado al seccionar, ya que el botón de células es fino y puede agotarse rápidamente por realizar demasiados cortes.

NOTA: Las secciones obtenidas de muestras incrustadas en Cytoblock conservan el gel alrededor de las células. Este gel puede teñirse ligeramente con algunos tintes. No obstante, puede quitarse totalmente con un enjuague rápido (de 3 a 5 minutos) en salino tamponado con fosfato (PBS, pH 6.8-7.2) antes de la tinción (pero después de quitar la parafina). En el apéndice de estas instrucciones se incluye una fórmula de PBS.

3.2 Preparaciones de Cytoblock de biopsias y fragmentos de tejido

1. La muestra debe fijarse antes del inicio de la preparación de Cytoblock.
2. Coloque una caja de Cytoblock con papel de respaldo y un separador de cartón en horizontal sobre felpa.
3. Aplique 3 gotas de Reactivo 1 en el centro de la cavidad en el separador de cartón.
4. Disponga los fragmentos de tejido en la cavidad del separador de cartón. La tensión superficial del Reactivo 1 permitirá orientar las muestras como se desee.
5. Añada suficiente cantidad de Reactivo 2 hasta llenar totalmente la cavidad que contiene el tejido, no más de 4 gotas. Puede modificar la orientación de las muestras conforme el gel empiece a solidificarse. Esto debe realizarse con rapidez, antes de que el gel esté demasiado sólido.
6. Coloque una gota de Reactivo 1 en el centro de la cavidad del separador, encima del botón de gel. Cierre la caja de Cytoblock y colóquela en un fijador a la espera de su preparación.

NOTA: El fijador debe estar NO TAMPONADO (pruebe con Shandon Formal-Fixx o el primer alcohol de tratamiento).

ADVERTENCIA: NO UTILICE SOLUCIONES TAMPONADAS CON FOSFATOS durante ninguna etapa de la preparación.

7. Procese las cajas en un procesador de tejidos estándar.

8. En la incrustación, abra la caja de Cytoblock. Doble la cubierta de papel y quite el separador de cartón. El separador se puede quitar insertando las puntas de unas pinzas finas por los orificios situados en la parte posterior de la caja de Cytoblock, debajo del separador.
9. Extraiga el botón de gel que contiene fragmentos de tejido y colóquelo en el molde de incrustación. Tire el separador de cartón y el papel de respaldo.
10. Vuelva a cerrar la caja de Cytoblock y colóquela con la PARTE PLANA HACIA ARRIBA (lado del pivote redondo hacia abajo) encima del molde básico. Rellene con parafina.
11. Trátelo como un bloque de parafina normal.

NOTA: Las secciones obtenidas de muestras incrustadas en Cytoblock conservan el gel alrededor de los fragmentos de tejido. Este gel puede teñirse ligeramente con algunos tintes. No obstante, puede quitarse totalmente con un enjuague rápido (de 3 a 5 minutos) en salino tamponado con fosfato (PBS, pH 6.8-7.2) antes de la tinción (pero después de quitar la parafina).

4. Guía de solución de problemas

1. **Número insuficiente de células.** La precentrifugación de suspensiones celulares asegura una muestra concentrada. Cuando hay pocas células y debe extenderse la muestra con Reactivo 2, las células pueden quedar muy separadas cuando se coloca la mezcla resultante en la cámara de muestra desechable Cytofunnel. Un número insuficiente de células refleja una muestra insuficiente y debe tenerse el debido cuidado para conservar tantas células como sea posible antes de utilizar el sistema Cytoblock.
2. **Pocas células en el bloque, pero muchas en la muestra.** Debe mezclarse la muestra de células con Reactivo 2 antes de que la muestra entre en contacto con el separador de cartón. Asegúrese de que la muestra se mezcla bien con Reactivo 2 antes de comenzar la citocentrifugación. Esta medida de precaución, junto con el cuidado de mojar bien la parte inferior y los laterales del separador de cartón antes de montar los embudos del Cytoclip, asegurará que las células quedan capturadas en el botón de gel y que no tienen la oportunidad de depositarse en el sistema de filtro de Cytofunnel o el separador antes de la formación del gel.
3. **Fijación insuficiente.** La previa fijación de las muestras antes de utilizar el sistema de bloques de células, más la fijación normal de las diversas estaciones del procesador debería evitar que se produzcan problemas de fijación insuficiente. No obstante, si la muestra no se fija hasta transcurrido un tiempo después de la recogida, la degeneración de las células puede llegar hasta un punto en que parezca que la fijación es insuficiente.
4. **Pérdida de integridad de los botones de gel que contienen células o fragmentos.** El material polimérico es muy estable ante la mayoría de los disolventes orgánicos y cera caliente. Este material es despolimerizado lentamente por agentes quelantes, como EDTA, y en presencia de iones de fosfato, como en formalina tamponada con fosfato. Los botones de gel producidos con el sistema Cytoblock no deben quedar expuestos a soluciones que contengan estos agentes despolimerizantes.

5. ESPECIFICACIONES

5.1 Apéndice

SALINO TAMPONADO CON FOSFATO

Cloruro sódico	7,90 g	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	0,58 g
Na ₂ HPO ₄	1,53 g	Agua destilada	1 litro

POUR UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

Table des matières

1. Introduction

- 1.1 Introduction au Cytoblock
- 1.2 Applications du Cytoblock

2. La trousse Cytoblock

3. Utilisation du Cytoblock pour préparer des blocs de tissus

- 3.1 Préparation Cytospin® d'échantillons cytologiques
- 3.2 Préparations Cytoblock à partir de biopsies et de fragments de tissus

4. Guide de dépannage

5. Spécifications

- 5.1 Annexe
- 5.2 Liste des composants

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

Se reporter aux avertissements et précautions des fiches toxicologiques, ainsi qu'aux définitions de codes R et S qu'elles contiennent. Les symboles utilisés sur les étiquettes et les emballages des produits sont les suivants :



Leurs définitions figurent au dos de cette brochure.

SYSTEME DE PREPARATION DE BLOCS DE TISSUS CYTOBLOCK DE SHANDON

REMARQUE : Veuillez lire le manuel d'utilisation avec soin avant d'utiliser cette trousse. Le gel produit n'est **pas** compatible avec des fixateurs contenant des phosphates. Thermo Electron Anatomical Pathology recommande l'utilisation de formol non tamponné ou du Formal-Fixx™ de Shandon.

1. INTRODUCTION

1.1 Introduction au Cytoblock®

Le système Cytoblock de Shandon est conçu pour faciliter la préparation de suspensions cellulaires, d'agrégats cellulaires et de fragments de tissus inclus en paraffine. Le système Cytoblock simplifie la production de blocs de paraffine à partir de matière cellulaire et favorise l'obtention de blocs utiles à partir de suspensions et d'agrégats cellulaires. Il peut également être utilisé pour traiter des biopsies et des fragments de tissus difficiles voire impossibles à traiter avec d'autres techniques. La préparation de blocs de tissus avec le système Cytoblock est tellement simple et fiable que la rétention d'un bloc inclus en paraffine pour chaque échantillon cytologique devient une procédure de laboratoire très pratique.

1.2 Application du Cytoblock®

Le Cytoblock peut être utilisé pour produire des blocs inclus en paraffine à partir d'échantillons prélevés par cytoponction ou par biopsie au trocart, de liquides organiques et de sédiments résiduels provenant d'autres préparations cytologiques. Le Cytoblock est également la méthode de traitement idéale des fragments de tissus tels que les petites biopsies, les curetages et autres échantillons trop infimes pour être traités dans des cassettes standard. L'utilisation du système Cytoblock évite le recours à des sachets de thé ou à l'enveloppement des tissus, ainsi que la perte potentielle de fragments minuscules.

2. La trousse Cytoblock

La trousse Cytoblock contient :

- 50 cassettes Cytoblock : complètes avec papiers protecteurs et inserts en carton,
- 1 réactif 1 Cytoblock (liquide transparent),
- 1 réactif 2 Cytoblock (liquide coloré).

Les cassettes Cytoblock sont préalablement assemblées : les papiers protecteurs et inserts en carton sont mis en place. Les composants de la trousse Cytoblock sont conçus pour être utilisés avec le Cytospin de Shandon afin de traiter des suspensions et des agrégats cellulaires. Ces composants peuvent être utilisés seuls pour traiter des fragments de tissus et des biopsies. Après le traitement du Cytoblock, la cassette est utilisée afin de former une couche de paraffine et ses dimensions de clamage sont identiques à celles d'une cassette de tissu standard. La cassette Cytoblock peut être utilisée avec des moules de fond de cassette standard lors de l'inclusion en paraffine.

3. Utilisation du Cytoblock pour préparer des blocs de tissus

3.1 Préparations Cytospin d'échantillons cytologiques

1. Enregistrer les informations concernant le patient sur le Cytoblock.
2. Les échantillons doivent être fixés avant de commencer la préparation Cytoblock dans le Cytospin.
3. Concentrer les cellules fixées par centrifugation, déverser le liquide en excédent et purger.
4. Estimer la quantité d'échantillon présente. Si la quantité totale d'échantillon est inférieure ou égale à 2 gouttes, ajouter 4 gouttes de REACTIF 2 au culot de centrifugation et mélanger à l'aide d'un agitateur Vortex ou par une aspiration répétée. Si la quantité d'échantillon est supérieure à 2 gouttes, il faut prendre la décision de créer ou non plus d'un bloc. Chaque bloc doit contenir au maximum 2 gouttes d'échantillon. Si vous disposez de suffisamment d'échantillon pour deux blocs, vous pouvez ajouter 8 gouttes de réactif 2 et mélanger dans un agitateur Vortex. [Le mélange sera divisé à part égale entre deux (2) cuves à échantillons jetables Cytofunnel® à l'étape 9.]
5. Monter la cassette Cytoblock dans le Cytoclip®, ce dernier devant être à l'horizontale. La cheville de positionnement située à l'arrière de la cassette Cytoblock s'enfiche dans l'orifice du Cytoclip pour garantir une orientation correcte.
6. Placer 3 gouttes de REACTIF 1 au centre de la cupule dans l'insert en carton. Le réactif 1 doit enduire toute la circonférence de la

- cupule. Prendre soin de ne pas verser de réactif 1 sur la surface supérieure de l'insert en carton.
7. Avec le papier protecteur déployé vers le sommet du Cytoclip, placer une cuve jetable Cytofunnel sur le CytoBlock préparé et fixer le porte-pince métallique selon la méthode habituelle.
 8. Disposer le Cytoclip assemblé dans la tête étanche du Cytospin.
 9. Déposer la suspension cellulaire mélangée dans chaque Cytofunnel.
 10. Fermer le Cytospin et régler sur cinq (5) minutes à 1500 tr/min. Utiliser le paramètre d'accélération FAIBLE. Démarrer le Cytospin.
 11. A l'arrêt du Cytospin, retirer les ensembles Cytofunnel et les placer à l'horizontale. Desserrer la pince et retirer les cuves. Pour un retrait plus facile, faire basculer la cuve sur le côté pour la séparer de l'insert en carton sous-jacent. Veiller à ce que la pastille cellulaire se trouve dans la cupule et n'ait pas adhéré à la cuve. Jeter la cuve.
 12. Déposer une goutte de réactif 1 sur la pastille cellulaire, au centre de la cupule de l'insert en carton. Fermer la cassette CytoBlock et la placer dans du fixateur en attendant son traitement.

REMARQUE : Le fixateur doit être NON TAMPONNE (essayer le Formal-Fixx de Shandon) ou le premier alcool de traitement.

AVERTISSEMENT : N'UTILISER DE SOLUTIONS TAMPON PHOSPHATE à aucun moment du traitement.

13. Traiter les cassettes dans un préparateur de tissu standard.
14. Lors de l'inclusion, ouvrir la cassette CytoBlock. Replier le papier protecteur et enlever l'insert en carton. Il peut facilement être retiré de la cassette CytoBlock en insérant les extrémités d'une pince fine dans l'un des orifices situés sous l'insert.
15. Détacher la pastille cellulaire du moule et inclure en paraffine à plat. Jeter l'insert en carton et le papier protecteur.
16. Fermer à nouveau la cassette CytoBlock et la placer FACE PLANE VERS LE HAUT (face incurvée avec la cheville vers le bas) sur le moule. Remplir de paraffine.
17. La manipulation est la même qu'avec n'importe quel bloc de paraffine. Prendre des précautions lors de la découpe car la pastille cellulaire est fine et peut être rapidement épuisée par des coupes excessives.

REMARQUE : les coupes issues des échantillons inclus du CytoBlock conservent la matrice gélifiée autour des cellules. Celle-ci peut être légèrement colorée par certains colorants. Elle peut être complètement éliminée par un bref rinçage (3 à 5 minutes) dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS, pH 6,8 à 7,2) avant la coloration (mais après élimination de la paraffine). Une formulation de la PBS figure dans l'annexe de ces instructions.

3.2 Préparations CytoBlock à partir de biopsies et de fragments de tissus.

1. Les échantillons doivent être fixés avant de commencer la préparation CytoBlock.
2. Placer une cassette CytoBlock avec son papier protecteur et son insert en carton à l'horizontale sur de l'essuie-tout.
3. Déposer 3 gouttes de réactif 1 au centre de la cupule dans l'insert en carton.
4. Disposer les fragments de tissus dans la cupule en carton. La tension superficielle du réactif 1 permet aux échantillons d'être orientés à souhait.
5. Ajouter suffisamment de réactif 2 pour remplir complètement la cupule contenant les tissus (pas plus de 4 gouttes). Il est possible de modifier l'orientation des échantillons tandis que le gel commence à se solidifier. Ceci doit être fait rapidement avant que le gel ne devienne trop rigide.
6. Déposer une goutte de réactif 1 sur la pastille de gel, au centre de la cupule de l'insert. Fermer la cassette CytoBlock et la placer dans du fixateur en attendant son traitement.

REMARQUE : Le fixateur doit être NON TAMPONNE (essayer le Formal-Fixx de Shandon) ou le premier alcool de traitement.

AVERTISSEMENT : N'UTILISER DE SOLUTIONS TAMPON PHOSPHATE à aucun moment du traitement.

7. Traiter les cassettes dans un préparateur de tissu standard.
8. Lors de l'inclusion, ouvrir la cassette Cytoblock. Replier le papier protecteur et enlever l'insert en carton. Il peut facilement être retiré en insérant les extrémités d'une pince fine dans les orifices situés sous l'insert au dos de la cassette Cytoblock.
9. Détacher la pastille de gel contenant les fragments de tissus et la placer dans un moule d'inclusion. Jeter l'insert en carton et le papier protecteur.
10. Fermer à nouveau la cassette Cytoblock et la placer FACE PLANE VERS LE HAUT (face incurvée avec la cheville vers le bas) sur le moule. Remplir de paraffine.
11. Manipuler comme un bloc de paraffine standard.

REMARQUE : les coupes issues des échantillons inclus du Cytoblock conservent la matrice gélifiée autour des fragments de tissus. Cette matrice peut être légèrement colorée par certains colorants. Elle peut être complètement éliminée par un bref rinçage (3 à 5 minutes) dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS, pH 6,8 à 7,2) avant la coloration (mais après élimination de la paraffine).

4. Guide de dépannage

1. **Nombre insuffisant de cellules** : la centrifugation préalable des suspensions cellulaires permet d'obtenir un échantillon concentré. Lorsque les cellules se font rares et que l'échantillon doit être dilué avec le réactif 2, les cellules peuvent être fortement dispersées au moment où le mélange résultant est placé dans la cuve à échantillons jetable Cytofunnel. Un nombre insuffisant de cellules est révélateur d'un échantillon inadéquat et il faut prendre soin de conserver autant de cellules que possible avant d'utiliser le système Cytoblock.
2. **Peu de cellules dans le bloc, mais beaucoup dans l'échantillon** : l'échantillon cellulaire doit être mélangé au réactif 2 avant d'être en contact avec l'insert en carton. S'assurer que l'échantillon est bien mélangé au réactif 2 avant de commencer la cyto-centrifugation. Il faut prendre cette précaution et veiller à humidifier le fond et les parois de la cupule de l'insert avant de monter l'ensemble cuve-Cytoclip afin que les cellules soient capturées dans la pastille de gel et ne risquent pas de se loger dans la carte filtre Cytofunnel ou dans l'insert en carton avant la formation du gel.
3. **Fixation inadéquate** : une fixation préalable des échantillons avant utilisation du système de blocs de tissus et l'action de fixation normale des différentes phases du préparateur doivent éviter tout problème de fixation inadéquate. Toutefois, si l'échantillon n'est pas fixé après un certain temps suivant son prélèvement, la dégénérescence cellulaire peut être telle qu'il en résulte une fixation inadéquate.
4. **Perte d'intégrité des pastilles de gel contenant des cellules ou des fragments** : le matériau polymérisé est très stable face à la plupart des solvants organiques et de la paraffine chaude. Il se dépolymérise lentement en présence d'agents de chélation, tel que l'EDTA, ou d'ions phosphate, comme dans le formol tamponné au phosphate. Les pastilles de gel créées à l'aide du système Cytoblock ne doivent pas être exposées à des solutions contenant ces agents dépolymérisés.

5. SPECIFICATIONS

5.1 Annexe :

SOLUTION SALINE TAMPON PHOSPHATE

Chlorure de sodium	7.90g	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	0.58g
Na ₂ HPO ₄	1.53g	Eau distillée	1 litre

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Sommario

1. Introduzione

- 1.1 Cenni introduttivi su Cytoblock
- 1.2 Applicazioni di Cytoblock

2. Kit Cytoblock

3. Uso di Cytoblock per l'allestimento di blocchi di cellule

- 3.1 Preparati di campioni citologici ottenuti con citocentrifuga Cytospin®
- 3.2 Preparati ottenuti con il sistema Cytoblock da biopsie e frammenti di tessuto

4. Guida alla risoluzione dei problemi

5. Specifiche

- 5.1 Appendice
- 5.2 Elenco ricambi

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per Avvertenze e Precauzioni, consultare le Schede di sicurezza e le definizioni di codice R & S. Su etichette e confezione del prodotto sono utilizzati i simboli seguenti:



Le definizioni sono riportate sul retro del presente opuscolo

SISTEMA PER L'ALLESTIMENTO DI BLOCCHI DI CELLULE CYTOBLOCK SHANDON

NOTA: Leggere attentamente il manuale di istruzioni prima di utilizzare il kit. Il gel prodotto **non** è compatibile con fissativi contenenti fosfati. Thermo Electron Anatomical Pathology consiglia l'uso di soluzione salina non tamponata o di Shandon Formal-Fixx™

1. INTRODUZIONE

1.1 Cenni introduttivi su Cytoblock®

Il sistema Cytoblock Shandon è stato progettato per agevolare l'allestimento di sospensioni cellulari, aggregati cellulari e frammenti di tessuto inclusi in paraffina. Il sistema Cytoblock semplifica la produzione di blocchi di paraffina da materiale cellulare e aumenta la quantità di blocchi utili da sospensioni e aggregati cellulari. Il sistema Cytoblock può inoltre essere utilizzato per processare biopsie e frammenti tissutali difficili o impossibili da trattare con altre tecniche. L'allestimento di blocchi di cellule con il sistema Cytoblock, grazie alla sua semplicità d'uso e affidabilità, consente di conservare un blocco incluso in paraffina per ogni campione citologico come normale e comoda procedura di laboratorio.

1.2 Uso previsto di Cytoblock®

Cytoblock può essere utilizzato per produrre blocchi inclusi in paraffina da agospirati, fluidi corporei e sedimento residuo di altri preparati citologici. Cytoblock, infine, è un metodo ideale per il processamento di frammenti di tessuto quali piccole biopsie, raschiamenti e altri campioni di dimensioni troppo ridotte per essere trattati in cassette standard. L'uso del sistema Cytoblock elimina la necessità di sacchetti, avvolgimenti del tessuto e previene la perdita potenziale di frammenti di piccole dimensioni.

2. Kit Cytoblock

Il kit Cytoblock contiene:

- 50 cassette Cytoblock - complete di carta di supporto e inserti di cartone
- 1 reagente Cytoblock 1 (liquido trasparente)
- 1 reagente Cytoblock 2 (liquido colorato)

Le cassette Cytoblock sono fornite preassemblate con carta di supporto e inserti di cartone già posizionati. I componenti del kit Cytoblock sono progettati per l'uso in combinazione con la citocentrifuga Shandon Cytospin per il processamento di sospensioni e aggregati cellulari. Tali componenti possono essere utilizzati separatamente per il processamento di frammenti di tessuto e biopsie. Al termine della procedura, la cassetta Cytoblock viene utilizzata per formare una base di paraffina con dimensioni del porta campione identiche a quelle di una cassetta istologica standard. La cassetta Cytoblock può essere utilizzata con formelle standard durante l'inclusione in paraffina.

3. Uso di Cytoblock per l'allestimento di blocchi di cellule

3.1 Preparati di campioni citologici ottenuti con citocentrifuga Cytospin

1. Registrare le informazioni sul paziente nel sistema Cytoblock.
2. Il fissaggio del campione deve precedere la fase iniziale di allestimento nella citocentrifuga.
3. Concentrare le cellule fissate mediante centrifugazione, quindi scartare il liquido in eccesso e spurgare.
4. Valutare la quantità di campione presente. Se la quantità totale di campione è pari o inferiore a 2 gocce, aggiungere 4 gocce di REAGENTE 2 al pellet di campione e miscelare su vortex oppure mediante aspirazione ripetuta. Se la quantità di campione è superiore a 2 gocce, occorrerà stabilire se si desidera preparare più blocchi. Ogni blocco deve corrispondere a un quantitativo di campione pari o inferiore a 2 gocce. Se la quantità di campione disponibile è sufficiente per due blocchi, aggiungere 8 gocce di Reagente 2 miscelando su vortex. [La miscela sarà equamente suddivisa in due (2) camere monouso Cytofunnel® di cui al punto 9.]
5. Montare la cassetta Cytoblock nel dispositivo di fermo a scatto Cytoclip®, con quest'ultimo in posizione orizzontale. La spina di posizionamento sul retro della cassetta Cytoblock va inserita nel foro del dispositivo Cytoclip per assicurare il corretto orientamento.
6. Applicare 3 gocce di REAGENTE 1 al centro della cavità dell'inserto in cartone. Il reagente 1 deve ricoprire l'intera circonferenza della cavità dell'inserto. Prestare attenzione a non versare il reagente 1 sulla parte superiore dell'inserto di cartone.
7. Con la carta di supporto rivolta verso la parte superiore del dispositivo di fermo a scatto Cytoclip, posizionare una camera monouso

Cytofunnel sul blocco preparato e fissare il supporto a scatto metallico nel modo consueto.

8. Inserire il dispositivo Cytoclip assemblato nella testa sigillata della citocentrifuga.
9. Trasferire la sospensione cellulare miscelata in ciascuna camera Cytofunnel.
10. Chiudere la citocentrifuga e impostare cinque (5) minuti a 1500 giri/min. Utilizzare l'impostazione di accelerazione BASSA. Avviare la citocentrifuga.
11. Al suo arresto, rimuovere i gruppi Cytofunnel e collocarli in posizione orizzontale. Rilasciare il fermo a scatto e rimuovere gli imbuti. Per facilitare la rimozione, scuotere l'imbuto lateralmente per separarlo dall'inserito di cartone sottostante. Accertarsi che il pellet cellulare sia nella cavità e non abbia aderito all'imbuto. Eliminare l'imbuto.
12. Applicare una goccia di Reagente 1 al centro della cavità dell'inserito in cartone, sul pellet cellulare. Chiudere la cassetta CytoBlock e applicare il fissativo in attesa del processamento.

NOTA: Utilizzare fissativo NON TAMPONATO (provare Shandon Formal-Fixx) o il primo alcool di processamento.

AVVERTENZA: NON UTILIZZARE soluzioni IN TAMPONE FOSFATO in nessuna delle fasi di processamento.

13. Processare le cassette in un processore di tessuti standard.
14. In sede di inclusione, aprire la cassetta CytoBlock. Ripiegare la carta di supporto e rimuovere l'inserito di cartone. Per un'agevole rimozione dell'inserito di cartone dalla cassetta CytoBlock, inserire le punte di una pinzetta in uno dei fori posti sotto l'inserito.
15. Rimuovere il pellet cellulare nella formella ed eseguire l'inclusione in piano. Eliminare l'inserito di cartone e la carta di supporto.
16. Richiudere la cassetta CytoBlock e collocarla con il LATO PIATTO RIVOLTO VERSO L'ALTO (lato spina rotonda verso il basso) sulla parte superiore della formella. Riempire con paraffina.
17. Manipolare come qualsiasi altro blocco di paraffina. Procedere con cautela durante il taglio, poiché il pellet cellulare è sottile e può essere rapidamente consumato da una sgrassatura eccessiva.

NOTA: Le sezioni ricavate da campioni inclusi CytoBlock mantengono la matrice di gel attorno alle cellule. Tale matrice può provocare una leggera colorazione con alcune macchie. È possibile rimuoverla completamente mediante un breve risciacquo (da 3 a 5 minuti) in una soluzione salina in tampone fosfato (PBS, pH 6.8-7.2) prima della colorazione (ma dopo la rimozione della paraffina). Nell'appendice è riportata una formulazione per la soluzione PBS.

3.2 Preparati CytoBlock da biopsie e frammenti di tessuto.

1. Il fissaggio del campione deve precedere la fase iniziale di allestimento CytoBlock.
2. Collocare una cassetta CytoBlock con la carta di supporto e l'inserito di cartone in posizione orizzontale sulla tela di asciugatura.
3. Applicare 3 gocce di Reagente 1 al centro della cavità dell'inserito di cartone.
4. Disporre i frammenti di tessuto nella cavità del cartone. La tensione superficiale del Reagente 1 consentirà l'orientamento desiderato dei campioni.
5. Aggiungere una quantità sufficiente di Reagente 2 per riempire completamente la cavità contenente il tessuto (non superiore a 4 gocce). È possibile riorientare i campioni quando il gel inizia a solidificarsi. L'operazione deve essere eseguita rapidamente, prima che il gel diventi troppo solido.
6. Applicare una goccia di Reagente 1 al centro della cavità dell'inserito di cartone, sopra il pellet cellulare. Chiudere la cassetta CytoBlock e applicare il fissativo in attesa del processamento.

NOTA: Utilizzare fissativo NON TAMPONATO (provare Shandon Formal-Fixx) o il primo alcool di processamento.

AVVERTENZA: NON UTILIZZARE soluzioni IN TAMPONE FOSFATO in nessuna delle fasi di processamento.

7. Processare le cassette in un processore di tessuti standard.
8. In sede di inclusione, aprire la cassetta Cytoblock. Ripiegare la carta di supporto e rimuovere l'inserito di cartone. Per un'agevole rimozione dell'inserito di cartone dalla cassetta, inserire le punte di una pinzetta in uno dei fori posti sotto l'inserito.
9. Rimuovere il pellet di gel contenente i frammenti di tessuto e collocarlo nella formella di inclusione. Eliminare l'inserito di cartone e la carta di supporto.
10. Richiudere la cassetta Cytoblock e collocarla con il LATO PIATTO RIVOLTO VERSO L'ALTO (lato spina rotonda verso il basso) sulla parte superiore della formella. Riempire con paraffina.
11. Manipolare come qualsiasi altro blocco di paraffina.

NOTA: Le sezioni ricavate da campioni inclusi Cytoblock mantengono la matrice di gel attorno ai frammenti di tessuto. Tale matrice può provocare una leggera colorazione con alcune macchie. È possibile rimuoverla completamente mediante un breve risciacquo (da 3 a 5 minuti) in una soluzione salina in tampone fosfato (PBS, pH 6.8-7.2) prima della colorazione (ma dopo la rimozione della paraffina).

4. Guida alla risoluzione dei problemi

1. **Numero inadeguato di cellule** La precentrifugazione delle sospensioni cellulari consente di ottenere un campione concentrato. Se è presente un numero limitato di cellule ed è necessario estendere il campione con il Reagente 2, il trasferimento della miscela risultante nella camera monouso Cytofunnel può comportare un'ampia separazione cellulare. Un numero inadeguato di cellule può indicare un campione non idoneo; conservare il numero più alto possibile di cellule prima di utilizzare il sistema Cytoblock.
2. **Numero di cellule limitato nel blocco, ma elevato nel campione** È opportuno miscelare il campione con il Reagente 2 prima che sia a contatto con l'inserito di cartone. Accertarsi che il campione sia adeguatamente miscelato con il Reagente 2 prima di iniziare la citocentrifugazione. Questa precauzione, unitamente all'umettazione del fondo e dei lati della cavità dell'inserito di cartone prima dell'assemblaggio del gruppo Cytoclip-funnel, assicura la cattura delle cellule nel pellet di gel, che in questo modo non hanno la possibilità di depositarsi nel filtro Cytofunnel o nell'inserito di cartone prima della formazione del gel.
3. **Fissaggio inadeguato** Il fissaggio preventivo dei campioni prima dell'uso del sistema, combinato con la consueta azione di fissaggio delle varie stazioni del processore, dovrebbe prevenire l'insorgere di problemi dovuti a un fissaggio inadeguato. Tuttavia, se il fissaggio del campione viene rimandato alla fase successiva alla raccolta, la degenerazione cellulare può risultare in un fissaggio inadeguato.
4. **Perdita di integrità dei pellet di gel contenenti cellule o frammenti** Il materiale polimerico presenta un'elevata stabilità alla maggior parte dei solventi organici e alla paraffina riscaldata. È esposto a una lenta depolimerizzazione da agenti chelanti, quali l'EDTA, e ioni di fosfato, come nella formalina in tampone fosfato. I pellet di gel ottenuti con il sistema Cytoblock non devono essere esposti a soluzioni contenenti i suddetti agenti depolimerizzanti.

5. SPECIFICHE

5.1 Appendice:

SOLUZIONE SALINA IN TAMPONE FOSFATO

Cloruro di sodio	7,90g	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	0,58g
Na ₂ HPO ₄	1,53 g	Acqua distillata	1 l

