

HƯỚNG DẪN CHUẨN BỊ TIÊU BẢN TẾ BÀO

Hướng dẫn sử dụng EasyVial

(Mã sản phẩm: EV-60010)



HƯỚNG DẪN PHƯƠNG PHÁP

Quy trình chuẩn bị tế bào cho các xét nghiệm phụ khoa

Sản phẩm **Pathtezt® EasyVial** là một phương pháp PAP nhúng dịch (liquid-based cytology – LBC) để chuẩn bị mẫu tế bào Gyn và Non-gyn. Phương pháp dựa trên công nghệ tự lắng do trọng lực. Sử dụng một lọ được thiết kế đặc biệt với một vòng đệm đặt trực tiếp trên lam kính PathTezt® Cyto-Slide với thiết kế tráng Nano riêng biệt.

Một mẫu tế bào học được một chuyên gia chăm sóc sức khỏe thu nhận bằng cách sử dụng một chổi phết để thu thập các tế bào. Sau đó mẫu được chuyển đến phòng thí nghiệm, chúng được trộn đều bằng máy vortex 10-15 giây. Mở nắp lọ một nửa vòng và gắn lam kính PathTezt® Cyto-Slide cho đến trung tâm vòng tròn trên lam kính, nhẹ nhàng thắt chặt nắp, sau đó đảo ngược nắp xuống. Trong khoảng 10 phút, các tế bào được lắng đọng bởi lực hấp dẫn. Quay mặt nắp lên và lắc lọ lên xuống 5 lần. Mở nắp một nửa vòng và lấy lam kính PathTezt® Cyto-Slide ra, để cố định trong cồn 95% trong 15 phút, slide đã sẵn sàng để nhuộm bằng phương pháp nhuộm Pap thông thường.

Kiểm tra bằng kính hiển vi sẽ quan sát được các tế bào đã tự lắng xuống trên lam kính bằng lực hấp dẫn, tạo nên một lớp tế bào mỏng.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Để sử dụng trong chẩn đoán in vitro

Đây là phương pháp xử lý tế bào theo phương pháp nhúng dịch (LBC) . Phương pháp này được dùng để thay thế cho phương pháp xử lý tế bào truyền thống (Pap smear) để sử dụng trong sàng lọc ung thư cổ tử cung.

VẬT LIỆU THIẾT YẾU

VẬT LIỆU ĐƯỢC CUNG CẤP

Các sản phẩm cung cấp sẵn trong một bộ xét nghiệm Pap PathTezt™:

- Hướng dẫn sử dụng
- Hóa chất PathTezt® EasyVial
- Lam kính PathTezt® Cyto

Các mục tùy chọn

Giải pháp ly giải tế bào CytoLysis PathTezt®

VẬT LIỆU BẮT BUỘC NHƯNG KHÔNG CUNG CẤP TRONG BỘ KIT

- Hệ thống dụng cụ và hóa chất nhuộm lam kính
- Chất cố định còn 95%
- Lamelle và keo dán lam kính
- Chổi phết tế bào (ví dụ: Cervical-Brush)

BẢO QUẢN

Điều kiện bảo quản đối với Môi trường bảo quản tế bào (Preserve Cell Solution) không có mẫu tế bào là tối đa 3 năm kể từ ngày sản xuất ở nhiệt độ 15° đến 30°C. Điều kiện bảo quản đối với Môi trường bảo quản tế bào (Preserve Cell Solution) có mẫu tế bào là 3 tuần ở nhiệt độ 4°C đến 35°C.

TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH

Sàng lọc tế bào học cổ tử cung bằng phương pháp Papanicolaou (Pap) liên quan đến việc kiểm tra bằng kính hiển vi các mẫu tế bào đã được lấy chủ yếu từ cổ ngoài cổ tử cung (C: ectocervix) và cổ trong cổ tử cung (E: endocervix), trải tế bào lên lam kính và nhuộm màu bằng quy trình nhuộm Papanicolaou. Sàng lọc tế bào học cổ tử cung với phương pháp Pap smear giúp giảm tỷ lệ tử vong 50 – 60% do ung thư cổ tử cung xâm lấn. Bởi vì tế bào học cổ tử cung là một xét nghiệm sàng lọc, những phát hiện bất thường phải được xác nhận lại bằng mô học.

Thu thập và chuẩn bị mẫu là cực kỳ quan trọng đối với độ chính xác trong phương pháp Pap smears. Mẫu ngẫu nhiên và đồng nhất là điều cần thiết cho độ chính xác hoàn toàn của phương pháp. Kỹ thuật Pap smear truyền thống không cung cấp cho việc trộn đều mẫu trước khi trải tế bào lên lam kính. Do các tế bào vương lại trong dịch nhầy trên dụng cụ lấy mẫu, nên các tế bào trải lên lam kính có thể không đại diện cho tất cả tế bào được thu thập. Các tế bào được trải lên lam kính liên quan đến vị trí thu mẫu trên dụng cụ. Nhiều tế bào bị bỏ sót trên dụng cụ lấy mẫu.

Sự không đồng đều của tế bào cổ tử trên dụng cụ thu mẫu làm cho phương pháp truyền thống PAP Smear khó khăn trong việc trải đều tế bào lên lam kính, sàng lọc và quan sát các bất thường. Diện tích trải tế bào rộng làm cho việc quan sát khó khăn, mất thời gian; đồng thời còn nhiều mảnh vụn, các tế bào viêm và chất nhầy có thể làm che khuất các biến đổi bất thường của tế bào. Ngoài ra, PAP smear phải được xử lý, cố định ngay lập tức sau khi trải lên lam kính, nếu không hình thái tế bào có thể bị méo mó do bị khô bởi không khí.

Đây là phương pháp để trải một lớp tế bào cổ tử cung từ dung dịch thu mẫu lên lam kính, nhuộm màu đồng nhất trong khi duy trì các cụm tế bào chẩn đoán. Quá trình này bao gồm bảo tồn tế bào, phân ngẫu nhiên, làm giàu vật liệu chẩn đoán, và lắng đọng trọng lực để tạo ra sự chuẩn bị tế bào. Kết quả của quá trình chuẩn bị là một lam kính PathTezt® Cyto-Slide để sử dụng trong kiểm tra tế bào học định kỳ.

NGUYÊN TẮC PHƯƠNG PHÁP

Phương pháp này là quy trình chuẩn bị tế bào theo phương pháp nhúng dịch - LBP cho các tế bào cổ tử cung. Mẫu vật phụ khoa được thu thập bởi nhân viên y tế có trình độ bằng cách sử dụng chổi phết tế bào. Đầu chổi phết được lấy ra và bỏ vào trong lọ dung dịch **PathTezt®EasyVial**. Các lọ được khóa nắp, dán nhãn và gửi với giấy tờ thích hợp đến phòng thí nghiệm để xử lý.

Trong phòng thí nghiệm, dung dịch bảo quản mẫu được trộn đều bằng máy Vortex. Mở nắp lọ một nửa vòng và gắn lam kính PathTezt® Cyto-Slide đến vòng tròn trung tâm, nhẹ nhàng thắt chặt nắp, sau đó đảo ngược nắp xuống. Trong khoảng 10 phút, các tế bào được

lắng đọng bởi lực hấp dẫn. Quay mặt lên nắp và lắc lọ lên xuống 5 lần. Mở nắp lọ một nửa vòng tròn và cố định lam kính bằng cồng 95% trong 15 phút, lam kính đã sẵn sàng để được nhuộm màu bằng phương pháp nhuộm Pap thông thường.

Lam kính PathTezt® Cyto được nhuộm màu, làm sạch và phủ kính, với các tế bào được hiển thị trên vòng tròn, đường kính 20 mm.

GIỚI HẠN

1. Sử dụng chẩn đoán In vitro.
2. Phương pháp sàng lọc Pap PathTezt®, nhuộm màu và quan sát các tế bào phải được theo sát chặt chẽ để có được kết quả đáng tin cậy.
3. Điều quan trọng là vortex mỗi mẫu kỹ lưỡng để đảm bảo tính đồng nhất ngay trước khi cho lắng nhờ trọng lực.
4. Tất cả những hạn chế khác như được mô tả cho việc chuẩn bị mẫu cho xét nghiệm DNA HPV Digene hoặc xét nghiệm PCR khác có thể được áp dụng.
5. Tất cả các vật tư chỉ dùng một lần và không thể sử dụng lại được

CẢNH BÁO

- o Môi trường bảo quản tế bào - PathTezt® Preserve Cell Solution chứa một dung dịch pha loãng của etanol đã biến tính và không dùng cho mục đích tiêu thụ của con người. Hỗn hợp này chứa một lượng nhỏ chất hóa học.

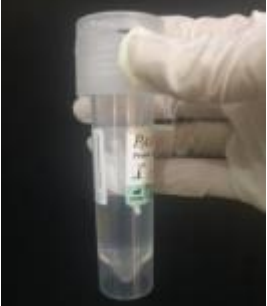
THẬN TRỌNG

- o Qui định trong phòng thí nghiệm sẽ được tuân thủ tốt và tất cả các quy trình sử dụng theo phương pháp hướng dẫn sẽ được tuân thủ nghiêm ngặt.
- o Tất cả các thuốc thử đều ổn định cho đến ngày hết hạn đã nêu, điều kiện lưu trữ được đề nghị được tuân thủ và duy trì.
- o Ô nhiễm vi sinh vật của thuốc thử có thể cho kết quả không chính xác.
- o Thay thế lam kính khác PathTezt® Cyto-Slide có thể dẫn đến kết quả không tối ưu.
- o Tránh bắn tung tóe hoặc tạo ra các bình xịt. Sử dụng bảo vệ tay, mắt và quần áo thích hợp.
- o Các thuốc thử bảo quản phải diệt khuẩn và chống virus và gây ra sự bất hoạt lớn hơn 99.999% các vi khuẩn và virus: *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, Rabitpox và virus suy giảm miễn dịch ở người (HIV).

LẮP ĐẶT VÀ THÔNG SỐ KỸ THUẬT

Giới thiệu

1) *Pathtest® EasyVial*

	1. Thu thập mẫu tế bào cổ tử cung Đưa chổi phết tế bào đến cổ tử cung. Dùng lực nhẹ nhàng cho đến khi cổ tử cung tác dụng lực ngược lại lông chổi. Duy trì áp lực nhẹ nhàng, giữ thân cây chổi giữa ngón tay cái và ngón trỏ; và xoay chổi năm lần theo chiều kim đồng hồ.
	2. Bảo toàn toàn bộ mẫu Đặt ngón tay cái của bạn vào mặt sau của đầu chổi, chỉ cần gỡ đầu chổi khỏi thân cây và để vào trong lọ môi trường bảo quản <i>Pathtest® EasyVial</i>
	3. Khóa nắp và điền nhãn lọ Đặt nắp trên lọ và thắt chặt. Điền nhãn lọ thuốc và phiếu yêu cầu xét nghiệm với tên bệnh nhân và/hoặc mã số, tên bác sĩ và ngày thu mẫu nếu muốn.
	4. Gửi lọ đến phòng thí nghiệm Đặt lọ và phiếu yêu cầu vào túi đựng mẫu và gửi đến phòng thí nghiệm.

Quy trình trải tế bào theo phương pháp nhúng dịch – LBC của **PathTezt® EasyVial**



Lọ bảo quản mẫu được chuyển đến phòng thí nghiệm với đầu chồi thu thập tế bào bên trong

Bước 1st Mở nắp lọ một nửa vòng tròn



Bước 2st Gắn lam kính PathTezt® Cyto-Slide đến vòng tròn trung tâm trên lam kính



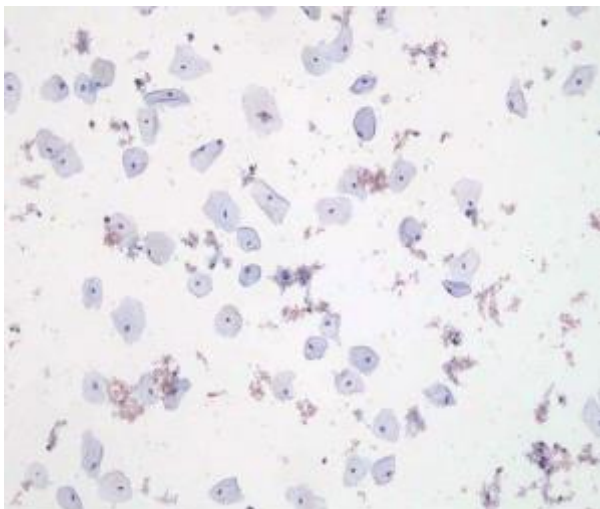
Bước 3st Nhẹ nhàng khóa nắp



Bước 4st Đảo ngược nắp xuống. Trong khoảng 10 phút, các tế bào được lắng đọng bởi lực hấp dẫn. Quay mặt lên nắp và lắc lọ lên xuống 5 lần.



Bước 5st Mở nắp lọ một nửa vòng tròn và cố định lam kính PathTezt® Cyto-Slide bằng còn 95% trong 15 phút, lam kính đã sẵn sàng để nhuộm màu bằng phương pháp nhuộm Pap thông thường.



Lớp mỏng tế bào theo công nghệ
Pathtezt® EasyVial

Không đạt yêu cầu!

Mẫu máu hoặc chất nhầy

A. Lam kính có chứa các mảnh vụn máu, protein hoặc không tế bào không?

Vâng!

Quy trình tùy chọn xử lý

1. Sử dụng cặn **Pathtezt® EasyVial** bằng cách ly tâm - 800 X 10 phút. Sau đó đổ bỏ dung dịch phía trên.
4. Thêm 15ml dung dịch ly giải Pathtezt® Cytolysis Solution vào **Pathtezt® EasyVial**.
5. Vortex để huyền phù cặn tế bào trong 15 giây và trộn mẫu.
6. Đánh giá sự hiện diện của cặn tế bào. Xác nhận cặn tế bào đã được huyền phù.
7. Để đứng lọ hóa chất trong 15 phút.
8. Chạy lại kỹ thuật **Pathtezt® EasyVial**.
9. Nếu lam kính mới không đạt yêu cầu, hãy lặp lại quy trình xử lý **Cytolysis solution Processing option procedure**.

Cố định và nhuộm

Phần 1

GIỚI THIỆU

Có một số cách khác nhau giữa các phòng thí nghiệm trong phương pháp cố định, nhuộm và phủ lam kính được sử dụng cho các mẫu. Đặc tính lớp tế bào mỏng được trải ra trên lam kính bằng phương pháp **PathTezt® EasyVial** cho phép đánh giá chính xác tác động của những khác biệt trong quy trình và giúp nhân viên phòng thí nghiệm tối ưu hóa phương pháp của họ bằng cách làm theo các hướng dẫn chung được cung cấp trong phần này. Những hướng dẫn này là các khuyến nghị và không phải là yêu cầu bắt buộc.

Sau đây là mô tả các nguyên tắc được đề xuất cho quy trình cố định, nhuộm và phương pháp phủ lam kính.

Phần 2

CỐ ĐỊNH

Nhúng toàn bộ lam kính đã thực hiện phương pháp **PathTezt® EasyVial** vào một lọ chứa cồn cố định trong phòng thí nghiệm. Sử dụng quy trình sau đây để cố định các lam kính.

1. Lấy từng lam kính trong lọ chứa cồn cố định ra.
2. Đặt lam kính vào một khay có nhiều ngăn riêng biệt chứa cồn chuẩn cố định 95% (Ethanol). Giảm thiểu độ phơi sáng của lam kính vào không khí:

Khi chuyển các lam kính từ lọ cồn cố định sang lọ cố định có khay nhuộm, cần cẩn thận để thực hiện thao tác này một cách nhanh chóng. Nếu các lam kính được chuyển sang khay nhuộm, hãy cẩn thận để các lam kính được liên tục ngâm trong cồn trong cố định.

3. Lam kính nên được cố định trong ít nhất 15 phút hoặc qua đêm trước khi nhuộm.

Phần 3

NHUỘM

Hướng dẫn chung để xem xét khi nhuộm lam kính PathTezt® Cyto-Slide:

Thời gian nhuộm có thể khác nhau và có thể yêu cầu điều chỉnh cho lam kính PathTezt® Cyto-Slide so với các chế phẩm thông thường.

Việc sử dụng các nồng độ cồn khác nhau trong quá trình nhuộm sẽ giảm thiểu tình trạng tế bào bị méo mó và sự trôi mất tế bào có thể xảy ra.

Việc sử dụng các chất tẩy và axit loãng sẽ tối ưu hóa việc nhuộm nhân tế bào và giảm thiểu khả năng trôi mất tế bào có thể xảy ra.

QUY TRÌNH NHUỘM

Một đề xuất cho quy trình nhuộm lam kính PathTezt® Cyto-Slide được gửi kèm bên dưới. Quy trình này kết hợp các nguyên tắc nhuộm chung đã nêu ở trên và các khuyến nghị cụ thể sau đây:

1. Nếu lam kính đã được phun cố định, loại bỏ các phun cố định bằng cách ngâm trong một chất cố định tiêu chuẩn của phòng thí nghiệm ít nhất 10 phút.
2. Nhuộm lam kính với các hóa chất nhuộm Papanicolaou theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Thực hiện theo quy trình nhuộm được đề nghị ở trên hoặc theo quy trình riêng của mỗi phòng thí nghiệm.
3. Thời gian nhuộm tiêu chuẩn cho các lam kính có thể khác với các lam kính theo phương pháp Pap truyền thống và có thể cần phải tăng hoặc giảm thời gian này. Chúng tôi khuyến cáo rằng thời gian nhuộm được tối ưu hóa theo quy trình vận hành chuẩn của phòng thí nghiệm. Những khác biệt này có thể đòi hỏi phải nhuộm PathTezt® Cyto-Slides riêng với các lam kính theo phương pháp Pap truyền thống.
4. BIOCYTECH khuyến cáo giảm sự tiếp xúc của các lam kính với các dung dịch axit mạnh hoặc dung dịch basic vì điều này có thể dẫn đến việc trôi mất tế bào. Dưới đây là nồng độ tối đa được đề nghị của một số hóa chất:

• Axit clohidric (HCL)	0,025%
• Lithium Carbonate	10mg mỗi lít
• Axit axetic	0.1%
• Ammonium Hydroxide	0,1%

5. Trong quá trình khử nước hydrat hóa, hãy sử dụng nhiều nồng độ, ví dụ: còn 50%, còn 70% .Điều này làm giảm gây sốc thẩm thấu và tế bào có thể trôi mất trong quá trình nhuộm.
6. Độ cao của dung dịch nên đủ để che phủ hoàn toàn các lam kính.
7. Lam kính nên được gắn ít nhất 10 lam kính cho mỗi lọ nhuộm.

Quy trình nhuộm của BIOCYTECH

	Hóa chất	Thời gian
1.	Còn 70%	1 phút
2.	Còn 50%	1 phút
3.	Nước cất	1 phút
4.	Hematoxylin I	30 giây
5.	Nước cất	15 giây
6.	Nước cất	15 giây
7.	Clarifier (0.025% glacial acetic acid)	30 giây
8.	Nước cất	30 giây
9.	Bluing Reagent (10mg LiCarb / 1L)	30 giây
10.	Còn 50%	30 giây
11.	Còn 95%	30 giây
12.	Richard-Allan Cytology Stain	1 phút
13.	Còn 95%	30 giây
14.	Còn 95%	30 giây
15.	Còn 100%	30 giây
16.	Còn 100%	30 giây
17.	Còn 100%	30 giây
18.	Xylen	1 phút
19.	Xylen	1 phút
20.	Xylen	3 phút
21.	Dán lam	

Các thuốc nhuộm có thể được đặt hàng từ Richard-Allan Medical Industries, inc. · 8850, M89, Hộp 351, Richard, MI · 49083-0351 · 1-800-253-7900. Hematoxylin I (7221), Richard-Allan Cytology Stain (7511). Permout là thương hiệu của Fisher Scientific Corp.

* Thời gian có thể thay đổi theo lô hoặc độ tuổi. *

phần 4

PHỦ LAM KÍNH

Việc sử dụng phương tiện dán Permout đã được đánh giá và được khuyến cáo sử dụng với các lam kính của BIOCYTECH. Vì một số phương tiện gắn kết gây ra "nổi" của các tế bào xảy ra trên PathTezt® hoặc các lam kính thông thường, mỗi phòng thí nghiệm nên đánh giá lựa chọn phương tiện gắn kết để đảm bảo tính tương thích với PathTezt® Cyto-Slides. BIOCYTECH khuyến cáo sử dụng miếng phủ 24mm X 30mm.

Phương tiện khác

- Baxter ACCU-MOUNT 60
- Shandon Clearium

