

Jones Staining Kit

REF

860-019

05279348001

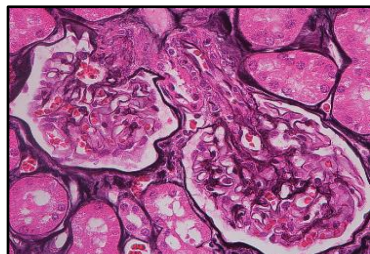
IVD
 40


Figura 1. Tinción con Jones Staining Kit de tejido de riñón.

USO PREVISTO

Jones Staining Kit está destinado a su uso en laboratorio como tinción histológica cualitativa para detectar la presencia de membranas basales capilares mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) teñido con un instrumento BenchMark Special Stains.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo

cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este producto está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Jones Staining Kit es una modificación del procedimiento Jones Methenamine Silver.¹

El glomérulo cuenta con una membrana basal capilar glomerular entre él y el espacio urinario que queda encapsulada por la cápsula de Bowman.^{2,3} Las enfermedades glomerulares se producen cuando existe una alteración en la barrera de filtración glomerular que puede permitir que los glóbulos sanguíneos o las proteínas de plasma la atraviesen.⁴

Jones Staining Kit destaca las proteínas de la matriz extracelular, las adhesiones a la cápsula de Bowman y las fracturas de la membrana basal capilar. Esta tinción facilita contraste y resolución de estas estructuras tan frágiles.^{5,6,7}

Jones Staining Kit detecta las membranas basales capilares para ayudar al anatomopatólogo en el diagnóstico de una enfermedad glomerular del tejido de riñón.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La reacción de tinción se fundamenta en la reducción aldehídica de los iones de plata a plata metálica en condiciones alcalinas. Se emplea Jones Periodic Acid para oxidar los carbohidratos a grupos aldehídos. La combinación de las soluciones Jones Silver A y Jones Silver B forma un complejo de metenamina y plata que se reduce fácilmente a plata metálica mediante los grupos aldehídos. Para aumentar el contraste de la tinción, la matización de la muestra de tejido finaliza mediante la incorporación del cloruro de oro que se encuentra en el reactivo Toner. Fixer, que contiene tiosulfato, detiene la reacción y elimina la plata que no se ha reducido del corte.^{5,8} Los núcleos se tiñen con Jones Hematoxylin y se aplica Jones Eosin para facilitar un fondo en contraste.

El kit se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark Special Stains. Los reactivos se aplican en el tejido en portaobjetos para microscopio y se mezclan con toda la muestra.

MATERIAL SUMINISTRADO

Los viales de reactivo se suministran en transportadores con etiquetas de código de barras para que puedan introducirse en la bandeja de reactivos del instrumento. Cada kit contiene reactivo suficiente para 40 pruebas:

Un vial de 19 mL de Jones Periodic Acid contiene aproximadamente ácido peryódico al 1 %.

Un vial de 19 mL de Jones Silver A contiene aproximadamente nitrato de plata al 1 %.

Un vial de 15 mL de Jones Silver B contiene, aproximadamente, un 2 % de borato de sodio y alrededor de un 14 % de metenamina.

Un vial de 15 mL de Toner contiene aproximadamente cloruro de oro al 1 %.

Un vial de 15 mL de Fixer contiene aproximadamente tiosulfato de sodio al 2 %.

Un vial de 19 mL de Jones Hematoxylin contiene Mayer's Hematoxylin modificada (contiene yodato sódico y etilenglicol).

Un vial de 15 mL de Jones Eosin contiene, aproximadamente, un 1 % de Eosin Y en una solución con alcohol.

Siete inserciones de viales con cañas de aspiración.

Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

No son necesarias la reconstitución, la mezcla, la dilución ni la titulación de los reactivos del kit. Una mayor dilución de cualquiera de los reactivos puede dar lugar a una tinción no satisfactoria.

Los reactivos del kit se han diluido de forma óptima para su uso con instrumentos BenchMark Special Stains.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Instrumento BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (n.º cat. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (n.º de cat. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (n.º de cat. 860-041 / 08309817001)
7. Equipo de laboratorio de uso general

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Jones Staining Kit se debe conservar a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Los componentes del kit que se encuentran refrigerados deben estar a temperatura ambiente antes de utilizarlos.

Si se almacenan correctamente, los reactivos se mantendrán estables hasta la fecha indicada en la etiqueta, ya se encuentren abiertos o cerrados. No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad que se indica en el kit.

No existen indicios absolutamente precisos de la inestabilidad de estos reactivos, por tanto, es necesario analizar simultáneamente los controles con las muestras desconocidas. Póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche si el material de control positivo presenta una reducción de la tinción, dado que podría indicar la inestabilidad del reactivo.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual son necesarios para el uso de este ensayo y de BenchMark Special Stains. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.⁹

Lleve a cabo la recogida de muestras y su conservación según se recoge en el documento Histotechnology: A Self Instructional Text.⁹ Corte las secciones con el grosor adecuado, aproximadamente de entre 2 y 4 µm, y colóquelas en portaobjetos de vidrio con carga positiva.

1. Seque los portaobjetos.⁹
2. Imprima las etiquetas con código de barras correspondientes.
3. Coloque las etiquetas de código de barras en el extremo congelado de los portaobjetos antes de cargarlos en el instrumento (consulte el Manual del usuario del instrumento para obtener información sobre la correcta aplicación de las etiquetas).

Consulte la sección Instrucciones de uso para obtener información sobre el protocolo recomendado para el instrumento BenchMark Special Stains.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.

6. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{10,11}
7. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
8. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
9. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark Special Stains y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en navifyportal.roche.com.
10. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
11. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
12. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
       	H225	El vapor y el líquido son altamente inflamables.
	H314	Puede provocar quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H360FD	Puede perjudicar la fertilidad. Puede ocasionar daños en el feto.
	H371	Puede ocasionar lesiones en los órganos.
	H373	Puede provocar daños en determinados órganos debido a la exposición prolongada o recurrente.
	H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P201	Antes de utilizarlo, obtenga cualquier tipo de instrucción especial.
	P210	Mantener alejado de fuentes de calor, superficies a elevada temperatura, chispas o llamas y otros focos de ignición. No fumar.
	P260	No inhale la niebla o los vapores.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Lleve guantes y prendas de protección, así como protección auditiva y para el rostro.
	P303 + P361 + P353	SI ENTRA EN CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quítese de inmediato todas las prendas contaminadas. Enjuague la piel con agua.
P304 + P340 + P310	SI SE INHALA: Lleve a la persona afectada a respirar aire fresco y procure que respire cómodamente. Consulte inmediatamente a un médico o a un centro de toxicología.	

Riesgo	Código	Declaración
	P305 + P351 + P338 + P310	SI ENTRA EN CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague los ojos con agua cuidadosamente durante unos minutos. Quítese las lentillas, si las lleva y puede hacerlo con facilidad. Siga aclarando la zona. Consulte inmediatamente a un médico o a un centro de toxicología.
	P308 + P311	Si se sufre una exposición importante: Consulte a un médico o a un centro de toxicología.
	P370 + P378	En caso de incendio: Trate de apagarlo con arena seca, productos químicos secos o espuma resistente al alcohol.
	P391	Recoja los vertidos.

EUH208: Este producto contiene cloruro, hidrocloreuro y trihidrato de oro y yodato sódico. Es posible que provoque reacciones alérgicas.

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación del vial de reactivo

Antes de utilizarlo por primera vez, es necesario colocar una inserción de vial y la caña de aspiración en el vial del reactivo.

Quite el tapón con el que se suministra el vial y coloque en el vial la inserción y la caña. La inserción y la caña de aspiración deben permanecer en el vial una vez que esté abierto.

Procedimiento de tinción

1. Cargue los reactivos y los portaobjetos en el instrumento.
2. Coloque el tapón blando en la ranura del soporte de reactivo cuando se esté utilizando el reactivo.
3. Lleve a cabo la sesión de tinción según el protocolo recomendado en la Tabla 2 y las instrucciones que recoge el Manual del usuario.
4. Cuando haya finalizado la sesión, retire los portaobjetos del instrumento.
5. Cubra el vial de reactivo con el tapón blando cuando no se utilice.
6. Una vez usados, almacene los reactivos tal y como se recomienda en las condiciones de almacenamiento recomendadas.

Protocolo recomendado

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos.

Los siguientes procedimientos son flexibles para adaptarse a las preferencias del usuario. Este producto se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark Special Stains, pero es necesario que el usuario valide los resultados que obtenga con ellos.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para Jones Staining Kit en un instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimiento de tinción	S Jones
Paso del protocolo	Método
Desparafinado	Seleccionar para automatizar la eliminación de la parafina.
Horneado (opcional)	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Se recomienda una temperatura de 75 °C durante 4 minutos.
Optimización de la intensidad de la tinción (Jones Silver B)	Los valores predeterminados son 60 °C durante 12 minutos* Seleccione esta opción para permitir el ajuste de la intensidad de la tinción.** Seleccione una temperatura de entre 55 y 60 °C: 55 °C, intensidad de la tinción más clara

Procedimiento de tinción	S Jones
Paso del protocolo	Método
	60 °C, intensidad de la tinción más oscura Seleccione un tiempo de incubación de entre 8 y 20 minutos: 8 minutos, tinción más clara 20 minutos, tinción más oscura
Eosin o Light Green Counterstain	Seleccione Eosin Counterstain para establecer el protocolo predeterminado.
Optimización de la intensidad de la hematoxilina (Jones Hematoxylin)	El tiempo predeterminado es de 8 minutos. Seleccione esta opción para optimizar la hematoxilina:** 8 minutos, tinción nuclear más clara 16 minutos, tinción nuclear más oscura
Optimización de Eosin (Jones Eosin)	El tiempo predeterminado es de 8 minutos. Seleccione para optimizar la eosina:** 4 minutos, contratinción más clara 12 minutos, contratinción más oscura

* Si se observa una elevada tinción de fondo o duplicación con el protocolo predeterminado (60 °C durante 12 minutos):

- Reduzca la temperatura del paso de incubación con Jones Silver B de 60 °C a 55 °C en función del intervalo de temperatura que permita el selector (de 55 °C a 60 °C).
- Ajuste la intensidad de la plata en la medida necesaria (la tinción con un tiempo más breve es más clara y con un tiempo más prolongado es más oscura) mediante el tiempo de incubación Silver B (8 minutos, 12 minutos o 16 minutos).

** Para ajustar las preferencias de la tinción, aumente los parámetros de temperatura de la tinción y de tiempo de incubación de uno en uno.

Procesamiento post-instrumento recomendado

1. Enjuague los portaobjetos en dos cambios de etanol al 95 % para eliminar los restos de solución y, a continuación, en otros tres cambios de etanol al 100 %.
2. Aclare los portaobjetos en tres cambios de xileno.
3. Aplique un cubreobjetos con medio de montaje permanente.

Compatible con el protocolo de montador mediante el sistema VENTANA HE 600. Si desea obtener instrucciones más detalladas al respecto, consulte el Manual del usuario del sistema VENTANA HE 600.

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Como ejemplo de material de control positivo se encuentra el tejido humano FFPE que contiene membrana basal.¹⁰ El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía, preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de la prueba. Estos tejidos se utilizan para hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el análisis, desde la preparación del tejido hasta la tinción.

El uso de una sección de tejido fijada o procesada de forma diferente a la muestra de la prueba actúa como control en todos los pasos de reactivo y del método, salvo en los de fijación y procesamiento de tejidos. Los componentes celulares de otros elementos del tejido pueden servir como control negativo.

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo.

El tejido de control se debe analizar en cada una de las sesiones.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para hacer un seguimiento del comportamiento correcto de los reactivos de la prueba y de los tejidos procesados, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente.

Si los componentes de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos. Si los componentes de tejido negativos muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras del paciente también se deben considerar no válidos.

Las discrepancias no explicadas en los resultados de los controles deberían comunicarse al representante local de asistencia técnica de Roche de forma inmediata. Si los resultados de los controles de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no serán válidos. Es necesario identificar la causa y corregir el problema, así como repetir el análisis de las muestras del paciente.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

Jones Staining Kit se ha analizado para detectar las membranas basales.

- Membranas basales: negro
- Núcleos: De rosa a morado
- Fondo: Rosa

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

Se ha observado una decoloración marrón de los portaobjetos de vidrio en los que se utiliza Jones Staining Kit. Esta decoloración, a niveles previstos, no debe interferir en la interpretación de la tinción.

Si se observa una elevada tinción de fondo o duplicación con el protocolo predeterminado (60 °C durante 12 minutos):

- Reduzca la temperatura del paso de incubación con Jones Silver B de 60 °C a 55 °C en función del intervalo de temperatura que permita el selector (de 55 °C a 60 °C).
- Ajuste la intensidad de la plata en la medida necesaria (la tinción con un tiempo más breve es más clara y con un tiempo más prolongado es más oscura) mediante el tiempo de incubación Silver B (8 minutos, 12 minutos o 16 minutos).

Únicamente se han utilizado y validado en este ensayo los portaobjetos para microscopio con carga positiva.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

Sensibilidad y especificidad

Se evaluaron la sensibilidad y especificidad analíticas en tejidos normales y afectados por enfermedad cortados con un grosor aproximado de 3 µm. En todos los casos de tejido evaluados (66/66) se obtuvo un resultado apto de tinción aceptable, tal y como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. La sensibilidad y especificidad de Jones Staining Kit se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE normales y patológicos.

Tejido	N.º de aptos/analizados
Riñón (normal)	41/41
Glomeruloesclerosis focal y segmentaria (riñón)	4/4
Enfermedad glomerular (riñón)	4/4
Glomerulonefritis membranosa (riñón)	4/4
Glomerulonefritis membranoproliferativa (riñón)	3/3
Nefropatía por lupus (riñón)	7/7
Glomeruloesclerosis diabética (riñón)	3/3

Precisión

La precisión de Jones Staining Kit se determinó en diferentes sesiones, días, instrumentos y lotes de reactivo con varios portaobjetos de cortes de seis casos de tejido

de riñón normal. Los casos de prueba se cortaron con un grosor aproximado de 2 µm. Se cumplieron todos los criterios de aceptación. Los estudios de precisión de portaobjetos se llevaron a cabo según la información que aparece en la Tabla 4

Tabla 4. Estudios de precisión de portaobjetos con Jones Staining Kit.

Parámetros analizados	N.º de condiciones	N.º de aptos/ N.º de analizados
Entre sesiones	Tres sesiones en un mismo día	54/54
Entre días	5 días	90/90
Entre instrumentos	Tres instrumentos	54/54
En la misma sesión	mismo día y mismo instrumento	54/54
Entre lotes	Tres lotes	54/54

Los resultados demostraron que no existía una diferencia significativa en la intensidad de la tinción entre los portaobjetos.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

- El grosor del corte puede afectar la calidad y la intensidad de la tinción. Si la tinción no es adecuada, póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche para obtener ayuda.
- El tejido necrótico o autolizado puede presentar tinción no específica.
- Si el control positivo es negativo, es posible que los tejidos se hayan recogido, fijado o desparafinado de forma incorrecta. Siga el procedimiento apropiado para llevar a cabo la recogida, el almacenamiento y la fijación.
- Si el control positivo es negativo, asegúrese de que el portaobjetos lleva la etiqueta de código de barras correcta. Si el etiquetado del portaobjetos es correcto, compruebe el resto de los controles positivos de la misma sesión para saber si se han teñido los controles adecuadamente.
- Si se presenta una tinción de fondo excesiva: una eliminación incompleta de la parafina puede provocar la aparición de artefactos en la tinción o la ausencia de esta. Si no se ha eliminado toda la parafina del portaobjetos, la sesión de tinción debería repetirse con una opción de desparafinado más prolongada, si fuera posible.
- Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, compruebe que los portaobjetos tienen carga positiva.
- Una conservación prolongada de los portaobjetos cargados en el instrumento una vez que ha finalizado la sesión puede afectar a la calidad y la intensidad de la tinción. Si la tinción no es adecuada, retire los portaobjetos de inmediato al finalizar la sesión y continúe con el procesamiento post-instrumento.
- Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Instrucciones de uso, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.

REFERENCIAS

- Koski JP. Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. *J Histotechnol.* 1981;3:115.
- Kitching AR, Hutton HL. The Players: Cells Involved in Glomerular Disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016;11(9):1664-1674.
- Mac-Moune Lai F, Szeto CC, Choi PC, et al. Isolate Diffuse Thickening of Glomerular Capillary Basement Membrane: A Renal Lesion in Prediabetes? *Mod Pathol.* 2004;17(12):1506-1512.
- Hebert LA, Parikh S, Prosek J, et al. Differential Diagnosis of Glomerular Disease: A Systematic and Inclusive Approach. *Am J Nephrol.* 2013;38(3):253-266.
- Bancroft JD, Layton C. Connective and Other Mesenchymal Tissues with Their Stains. In: *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques.* 2019:153-175.
- Cathro HP, Shen SS, Truong LD. Diagnostic Histochemistry in Medical Diseases of the Kidney. *Semin Diagn Pathol.* 2018;35(6):360-369.
- Herrera GA, Turbat-Herrera EA. Renal Diseases with Organized Deposits: An Algorithmic Approach to Classification and Clinicopathologic Diagnosis. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134(4):512-531.
- Jones DB. Nephrotic Glomerulonephritis. *Am J Pathol.* 1957;33(2):313-329.

- Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte en elabdoc.roche.com/Symbols la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
G	Se han actualizado las secciones Advertencias y precauciones, Protocolo recomendado, Limitaciones específicas, Referencias, Símbolos y Propiedad Intelectual

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

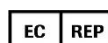
INFORMACIÓN DE CONTACTO



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA

+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

