

BenchMark Special Stains AFB Staining Kit

REF

860-043

08432503001

IVD


75

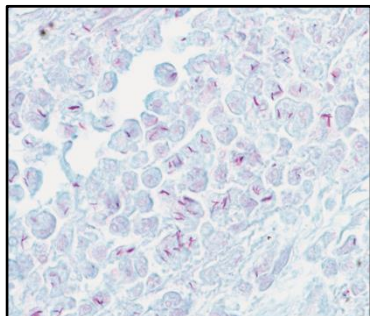


Рис. 1. Окрашивание пораженной ткани легкого с помощью набора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit.

исследования и необходимых клинических данных после сравнения с соответствующими контролями.

Этот продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

BenchMark Special Stains AFB Staining Kit является вариацией красителя Циль–Нильсена.¹ Раствор фуксина используется для окрашивания кислотоустойчивых организмов и компонентов в красный цвет. Контрастное окрашивание реагентом Aniline Blue применяется для получения контрастирующего синего фона.

Свойство кислотоустойчивости связано со структурой клеточной стенки AFB.² Бактерии этой группы имеют дополнительный гидрофобный слой, состоящий из сложных липидов, в частности миколевой кислоты, который окружает клеточную стенку из пептидогликана.² Этот восковой липидный слой действует как селективный барьер, обеспечивающий проникновение определенных фенольных красителей, таких как фуксин, в то же время предотвращающий проникновение кислотно-спиртового обесцвечивающего агента, за счет чего эти организмы становятся кислоторезистентными, или «кислотоустойчивыми».² Следовательно, кислотоустойчивые бактерии могут сохранять окрашивание фуксином и отображаться красным цветом при визуализации. У отличных от AFB организмов отсутствует дополнительный липидный слой, поэтому препятствие для проникновения кислотно-спиртовых соединений отсутствует и эти соединения обесцвечивают окрашенные фуксином участки. При применении Aniline Blue отличные от AFB организмы окрашиваются в синий цвет, благодаря чему их легко отличить от AFB.

С помощью набора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit врач-патологоанатом осуществляет диагностику инфекций, возбудителями которых являются кислотоустойчивые бактерии (AFB).

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Реакция окрашивания основана на действии нового фуксина с поверхностно-активным веществом и основанием в спирте, который усиливает окрашивание и растворяет краситель, для окрашивания всех компонентов в срезе. Decolorizer, кислотный спиртовой реагент, применяется для удаления цвета со всех элементов ткани, кроме кислотоустойчивых компонентов. Считается, что организмы, которые остаются окрашенными, обеспечивают избирательную проницаемость фуксина.² Контрастный краситель Aniline Blue обеспечивает контраст на срезе ткани для улучшения визуализации организмов.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор BenchMark Special Stains AFB Staining Kit предназначен для использования в лаборатории с целью качественного гистологического окрашивания для визуализации средствами световой микроскопии кислотоустойчивых бактерий (AFB) в срезах фиксированной формалином и залитой в парафин ткани, окрашенной на приборе BenchMark Special Stains.

Интерпретация результатов анализа должна осуществляться квалифицированным врачом-патологоанатомом с учетом результатов гистологического

Данный набор оптимизирован для использования на приборах BenchMark Special Stains. Реагенты наносятся на ткань на предметном стекле для микроскопа и смешиваются на всей поверхности образца.

МАТЕРИАЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Флаконы с реагентом поставляются в маркированных штрихкодом носителях, которые помещают в лоток для реагентов прибора. Каждый набор содержит реагент в количестве, достаточном для проведения 75 тестов:

Один флакон AFB Core Stain объемом 27 мл содержит новый фуксин (1.75 %) и неионное алкогольтоксилатное поверхностно-активное вещество в спиртосодержащем реагенте (2.25 %).

Один флакон AFB Core Decolorizer объемом 27 мл содержит метанол (64 %) и серную кислоту (18 %).

Один флакон Aniline Blue для AFB объемом 27 мл содержит анилиновый синий (0.015 %) и уксусную кислоту (0.25 %).

Три вставки для флаконов с соломинками.

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование входящих в набор реагентов не требуется. Последующее разбавление какого-либо из реагентов может привести к недостаточному окрашиванию.

Реагенты данного набора разведены до оптимальной концентрации для использования в приборах BenchMark Special Stains.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Продукты, перечисленные в технологической карте процесса, могут быть недоступны в некоторых странах. Проконсультируйтесь с представителем региональной службы поддержки.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки:

1. рекомендованная контрольная ткань;
2. предметные стекла для микроскопа с положительным зарядом;
3. прибор BenchMark Special Stains;
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (№ по каталогу 860-036 / 06523102001);
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (№ по каталогу 860-034 / 06523072001);
6. раствор BenchMark Special Stains Wash II (№ по каталогу 860-041 / 08309817001);
7. лабораторное оборудование общего назначения.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Набор BenchMark Special Stains AFB Staining Kit необходимо хранить при температуре 15–30 °C.

При условии надлежащего хранения вскрытые и невскрытые реагенты сохраняют свои свойства до даты, указанной на упаковке.

Не использовать реагент после истечения срока годности, указанного на этикетке набора.

Признаки, однозначно свидетельствующие о нестабильности данных реагентов, отсутствуют. По этой причине одновременно с исследованием неизвестного образца следует проводить циклы определения на контролях. Если материалы для положительного контроля демонстрируют более слабое окрашивание, свяжитесь с представителем региональной службы поддержки, так как это может быть признаком нестабильности реагентов.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

С данным продуктом для анализа необходимо использовать обработанные стандартным способом фиксированные формалином и залитые в парафин (FFPE) ткани в приборах BenchMark Special Stains. В качестве фиксатора ткани рекомендуется использовать 10 % нейтральный забуференный формалин.³

Осуществляйте отбор и хранение образцов в соответствии с документом Histotechnology: A Self Instructional Text.⁴ Сделайте срезы необходимой толщины, приблизительно 4 мкм, и поместите их на положительно заряженные предметные стекла.

1. Высушите предметные стекла.³

- Распечатайте соответствующие этикетки со штрихкодами.
- Наклейте этикетки со штрихкодами на матовый конец предметных стекол перед их загрузкой в прибор (правильное размещение этикеток см. в руководстве пользователя конкретного прибора).

Рекомендованный протокол для прибора BenchMark Special Stains см. в разделе «Инструкция по применению».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Для диагностики in vitro (IVD).
- Только для профессионального использования.
- ВНИМАНИЕ!** Федеральный закон США разрешает продажу этого изделия только врачам или по предписанию врача. (Rx Only)
- Не использовать для проведения количества тестов, превышающего указанное.
- Предметные стекла с положительным зарядом могут быть чувствительными к воздействию факторов окружающей среды, что ведет к некорректному окрашиванию. Обратитесь к представителю сервисной службы компании Roche для получения более подробной информации об использовании данного типа предметных стекол.
- Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности. В случае контакта с ними необходимо следовать руководящим указаниям ответственных здравоохранительных органов.^{5,6}
- Избегайте контакта реагентов с глазами и слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте пораженные участки достаточным количеством воды.
- Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.
- Дальнейшую информацию по использованию устройства см. в руководстве пользователя прибора BenchMark Special Stains и инструкциях по применению всех необходимых компонентов на веб-сайте navifyportal.roche.com.
- Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными компетентными органами в отношении рекомендуемого способа утилизации.
- Маркировка безопасности продукции в первую очередь соответствует директивам ЕС по СГС. Паспорт безопасности предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
- Чтобы сообщить о подозрениях на серьезные происшествя, связанные с данным устройством, обращайтесь в местное представительство компании Roche и в уполномоченные органы государства-участника или страны местонахождения пользователя.

Данный продукт содержит компоненты, классифицированные согласно регламенту (ЕС) № 1272/2008 следующим образом.

Табл. 1. Информация об опасности.

Опасность	Код	Заявление
Фактор опасности  	H225	Легковоспламеняющаяся жидкость и пары.
	H301 + H311 + H331	Оказывает токсическое действие при попадании внутрь, вдыхании и контакте с кожей.
	H314	При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги.
	H351	Подозрение на канцерогенность.
	H370	Вызывает повреждения органов.
	H412	Вредно для водной флоры и фауны с долговременными эффектами.
	P210	Беречь от тепла, горячих поверхностей, искр, открытого огня и других источников воспламенения. Курение при использовании запрещено.

Опасность	Код	Заявление
 	P260	Избегать вдыхания взвеси или паров.
	P280	Использовать перчатки/спецодежду/средства защиты глаз/лица/слуха.
	P301 + P310 + P330	ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу. Прополощите рот.
	P303 + P361 + P353	ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы). Немедленно снять всю загрязненную одежду. Ополосните кожу водой.
	P304 + P340 + P310	ПРИ ВДЫХАНИИ. Свежий воздух, покой. Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу.
	P305 + P351 + P338 + P310	ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА. Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они имеются и это легко осуществить. Продолжайте промывать. Немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу.
	P308 + P311	ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ВОЗМОЖНОСТЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ: обратиться за медицинской помощью.
	P370 + P378	При пожаре: тушить сухим песком, огнетушащим порошком или спиртоустойчивой пеной.
	P403 + P233	Хранить в хорошо проветриваемом месте. Держать емкость плотно закрытой.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Подготовка флакона с реагентом

Перед первым использованием вставку для флакона и соломинку нужно поместить во флакон с реагентом.

Удалите транспортировочный колпачок из флакона и поместите вставку и соломинку во флакон. После открытия флакона соломинка должна оставаться во флаконе.

Процедура окрашивания

- Загрузите реагенты и предметные стекла в прибор.
- Положите мягкий колпачок в отверстие держателя реагентов, если реагенты используются.
- Выполните цикл окрашивания в соответствии с рекомендованным протоколом (см. Табл. 2) и инструкциями в руководстве пользователя.
- По завершении цикла извлеките предметные стекла из прибора.
- Если флакон с реагентом не используется, закройте его мягким колпачком.
- После использования храните реагенты с соблюдением рекомендованных условий хранения.

Рекомендованный протокол

Параметры автоматических процедур могут быть отображены на экране, напечатаны и отредактированы согласно процедуре, описанной в руководстве пользователя, прилагаемом к соответствующему прибору.

Процесс выполнения следующих процедур может быть гибко настроен в соответствии с потребностями пользователя. Данный продукт оптимизирован для использования в приборах BenchMark Special Stain; пользователь должен валидировать результаты, полученные с помощью данного продукта.

Табл. 2. Рекомендованный протокол окрашивания для BenchMark Special Stains AFB Staining Kit в приборах BenchMark Special Stains.

Процедура окрашивания	S AFB
Этап протокола	Метод
Депарафинизация	Выберите автоматическое удаление парафина.
Прогрев (дополнительно)	Параметр по умолчанию не выбран. Рекомендуется 75 °C в течение 4 минут.
Оптимизация интенсивности окрашивания	Время по умолчанию — 16 минут. Выберите для настройки интенсивности окрашивания:* Выберите продолжительность инкубации от 12 до 20 минут: 12 минут, более светлое окрашивание AFB с меньшей выраженностью розового 20 минут, более темное окрашивание AFB с большей выраженностью розового
Оптимизация интенсивности окрашивания Aniline Blue	Время по умолчанию — 4 минуты. Выберите для настройки интенсивности окрашивания Aniline Blue:* Выберите продолжительность инкубации от 4 до 12 минут: 4 минуты — более светлое контрастное окрашивание; 12 минут — более темное контрастное окрашивание.

* Для регулировки параметров окрашивания следует увеличивать продолжительность инкубации по одному параметру за раз.

Рекомендуемая обработка после автоматического окрашивания

1. Ополосните предметные стекла 95%-м этанолом, дважды сменив его, чтобы удалить остатки раствора, а затем 100%-м этанолом, трижды сменив его.
2. Выполните очистку предметных стекол в 100%-м спирте, трижды сменив его.
3. Накройте покровным стеклом, используя постоянную заливочную среду.
4. Совместим с протоколом автоматического накрывания системы VENTANA HE 600. Более подробные инструкции см. в руководстве пользователя системы VENTANA HE 600.

ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Образец положительного тканевого контроля — FFPE ткань человека, положительная по кислотоустойчивым бактериям.³ В качестве контрольной ткани следует использовать свежие образцы тканей, полученные при вскрытии, биопсии или хирургической операции. С помощью таких тканей следует осуществлять мониторинг всех этапов анализа от приготовления образцов тканей до окрашивания.

Использование срезов тканей, фиксированных или обработанных иначе, чем тестируемый образец, позволяет осуществлять контроль для всех реагентов и этапов методики, за исключением фиксации и обработки тканей. Клеточные структуры других тканевых элементов могут служить в качестве отрицательного контроля.

Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно предметное стекло с образцом исследуемой ткани. Это позволяет распознать случаи, когда реагенты нанесены на предметное стекло неправильно. Контрольная ткань может содержать как положительные, так и отрицательные элементы окрашивания и служить как в качестве положительного, так и отрицательного контроля.

Контрольная ткань должна тестироваться при каждом цикле.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля правильности работы с обработанными тканями и реагентами теста, а не в

качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании образцов пациента.

Если не наблюдается положительных результатов окрашивания положительных тканевых компонентов, результаты окрашивания тестируемых образцов следует считать недействительными. Если наблюдается положительное окрашивание отрицательных компонентов, результаты окрашивания исследуемых образцов пациента также следует считать недействительными.

В случае необъяснимых расхождений контрольных результатов следует немедленно обратиться к представителю региональной службы поддержки. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты для пациента являются недействительными. Необходимо указать причину, исправить ее и повторить исследование образцов пациента.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОКРАШИВАНИЯ / ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Набор BenchMark Special Stains AFB Staining Kit тестируется с целью демонстрации кислотоустойчивых бактерий.

- Кислотоустойчивые бактерии (AFB): красный
- Фон: синий

При малом увеличении бактерии выглядят как красные пятна. При увеличении в 100 раз с масляной иммерсией они выглядят как накладываются структуры в форме палочки. Кислотоустойчивые бактерии некоторых видов могут изменять форму в зависимости от типа организма и плоскости среза.

В некоторых клетках, связанных с воспалением, наблюдалось неспецифическое окрашивание цитоплазматических гранул цветом от розового до красного.

Эритроциты, особенно внутри кровеносных сосудов в областях с большим содержанием жировой ткани, могут окрашиваться в розовый цвет.⁷

ОСОБЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

Для данного анализа использовались и прошли валидацию только предметные стекла с положительным зарядом.

Проводили анализ только положительных по AFB организмов. Выявление специфических микроорганизмов не проводилось.

Этот метод не рекомендуется для детекции микобактерий лепры.^{2,3}

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Для данного реагента были проведены исследования специфичности, чувствительности и прецизионности окрашивания. Результаты приведены ниже.

Чувствительность и специфичность

Аналитическую чувствительность и специфичность в отношении визуализации кислотоустойчивых бактерий оценивали в нескольких исследованиях, в которых сравнивали два различных метода детекции. Окрашивание кислотоустойчивых бактерий происходит в случае инфицирования легких этими бактериями. На тканях здорового аппендикса и легкого окрашивание не происходит. Всего 98 % проанализированных случаев (62/63) удовлетворяли критериям приемлемости окрашивания, как показано в Таблице 3.

Табл. 3. Чувствительность/специфичность окрашивания с помощью набора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit определялась путем тестирования FFPE здоровых и зараженных тканей.

Ткань	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/ число анализов
Аппендикс (здоровый)	22 / 23*
Легкое (здоровое)	15 / 15
Легкое (инфицировано AFB)	25 / 25

* Интерпретацию по одному предметному стеклу было невозможно провести из-за артефакта

Прецизионность

В прецизионных исследованиях сравнение проводили по нескольким предметным стеклам с использованием 9 случаев зараженной ткани AFB и 1 случая здоровой ткани. Оценку окрашенных тестовых и контрольных предметных стекол проводили двумя способами: 1) $\geq 95\%$ предметных стекол с тестовыми образцами продемонстрировали окрашивание кислотоустойчивых бактерий в ярко-красный цвет, а фон окрашивался в голубой цвет; и 2) маскированное парное сравнение тестовых предметных стекол с контрольными предметными стеклами показывает, что $\geq 90\%$ тестовых предметных стекол были оценены как имеющие не меньшую эффективность по сравнению с контрольными предметными стеклами. Было достигнуто соответствие всем критериям приемлемости. Исследования прецизионности проводили для набора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit следующим образом:

1. Между приборами: 180 предметных стекол анализировали на 3 разных приборах BenchMark Special Stains (60 предметных стекол на прибор и 18 предметных стекол на случай) с использованием набора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit. Предметные стекла оценивали на соответствие или несоответствие критериям окрашивания. Исследование продемонстрировало соответствие критериям приемлемости.
2. Между циклами: 180 предметных стекол анализировали на 3 приборах BenchMark Special Stains (20 предметных стекол на цикл, 3 цикла в день и 18 предметных стекол на случай) в 2 дня, идущих один за другим, с использованием набора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit. Предметные стекла оценивали на соответствие или несоответствие критериям окрашивания. Исследование продемонстрировало соответствие критериям приемлемости.
3. Между партиями: 180 предметных стекол (3 партии по 60 стекол каждая) анализировали на 3 приборах BenchMark Special Stains с использованием набора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit. Предметные стекла оценивали на соответствие или несоответствие критериям окрашивания. Исследование продемонстрировало соответствие критериям приемлемости.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Данные о клинической эффективности, относящиеся к предусмотренному назначению прибора BenchMark Special Stains AFB Staining Kit, оценивались путем систематического обзора литературы. Собранные данные подтверждают возможность использования продукта в соответствии с его предусмотренным назначением.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

1. Толщина среза может оказывать влияние на качество и интенсивность окрашивания. Если результаты окрашивания неудовлетворительные, обратитесь за помощью к представителю региональной службы поддержки.
2. Некротическая или автолизированная ткань может давать неспецифическое окрашивание.
3. Если результаты положительного контроля отрицательные, возможно, ткани неправильно собирались, фиксировались или депарафинизировались. Соблюдайте методику забора, хранения и фиксации образцов.
4. Если результаты положительного контроля отрицательные, проверьте правильность этикетки со штрихкодом на предметном стекле. Если этикетка со штрихкодом на предметном стекле правильная, проверьте другие положительные контроли из того же цикла, чтобы определить правильность окрашивания при выполнении контроля.
5. Причиной избыточного фоновое окрашивания может служить неполное удаление парафина, которое приводит к возникновению артефактов или отсутствию окрашивания. Если с предметного стекла удален не весь парафин, при возможности, цикл окрашивания следует повторить с использованием варианта продленной депарафинизации.
6. Если срезы ткани смываются с предметного стекла, проверьте предметные стекла и убедитесь, что они имеют положительный заряд.
7. Интенсивность и оттенок окрашивания анилиновым синим зависит от толщины среза ткани. На более тонких срезах контрастное окрашивание будет более светлого оттенка.
8. Длительное нахождение предметных стекол внутри прибора после завершения цикла может повлиять на качество и интенсивность окрашивания. Если окрашивание оказывается неудовлетворительным, извлекайте

предметные стекла в конце цикла и переходите к обработке после автоматического окрашивания в приборе быстрее.

9. Способы устранения проблем см. в разделе «Инструкция по применению» или руководстве пользователя прибора. Эту информацию также можно получить у представителя региональной службы поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. St. Louis, MO: C.V. Mosby Company; 1980.
2. Vilchèze C, Kremer L. Acid-Fast Positive and Acid-Fast Negative Mycobacterium Tuberculosis: The Koch Paradox. Microbiology spectrum. 2017;5(2).
3. Bancroft JD, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques. 2nd edition. Edinburgh: Churchill-Livingston; 1982.
4. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
5. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
6. 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.
7. Horobin RW, Bancroft JD. Troubleshooting Histology Stains. New York: Churchill Livingstone; 1998.

ПРИМЕЧАНИЕ. В настоящем документе в дробных числах в качестве границы, отделяющей десятичные знаки от целого, всегда используется точка. Разделители для тысяч не используются.

Сводную информацию о безопасности и эксплуатационных характеристиках можно найти по адресу: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Символы

Компания Ventana использует следующие символы и знаки в дополнение к указанным в стандарте ISO 15223-1 (определение символов для США см. на веб-сайте: elabdoc.roche.com/symbols):



Глобальный номер товара



Уникальный идентификатор устройства



Указывает на юридическое лицо, осуществляющее импорт медицинского изделия в страны Европейского союза.

ИСТОРИЯ РЕДАКЦИЙ

Ред.	Обновления
D	Обновлен раздел «Прецизионность».

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

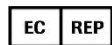
VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche. Все остальные товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventanamedical.com



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

