

Light Green for PAS

REF 860-010
05279267001

IVD  75

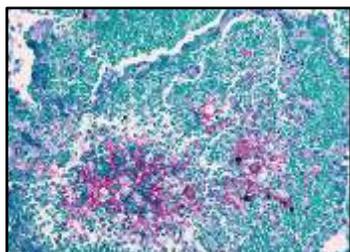


Figura 1. Colorazione di microrganismi fungini nel tessuto polmonare con Light Green for PAS.

USO PREVISTO

Light Green for PAS è destinato all'uso in laboratorio per la colorazione di componenti non target e la creazione di un contrasto con i target colorati in sezioni di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE) su uno strumento BenchMark Special Stains.

Questo reagente è indicato per l'uso come controcolorazione nelle colorazioni speciali.

Questo prodotto è indicato per uso diagnostico in vitro (IVD).

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Light Green for PAS è una controcolorazione composta da un solo flacone da utilizzare insieme a PAS Staining Kit. PAS Staining Kit sfrutta una modifica di una tecnica descritta originariamente da McManus nel 1946 per la visualizzazione delle mucine, del glicogeno, della membrana basale e dei microrganismi fungini combinando l'ossidazione dei polisaccaridi ad opera dell'acido periodico e la colorazione con il reattivo di Schiff.¹

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

PAS Staining Kit utilizza il reagente Periodic Acid per l'ossidazione dei glicoli in aldeidi. Il reattivo di Schiff forma un composto diazotico incolore che viene trasformato nella colorazione magenta dei componenti cellulari contenenti glicole.² Il reagente Light Green for PAS viene utilizzato in sostituzione di o insieme a Hematoxylin fornito con PAS Staining Kit. Light Green for PAS tinge il fondo di verde chiaro, mentre PAS Staining Kit colora di magenta gli elementi del tessuto fungino.

Questo kit è ottimizzato per l'uso sugli strumenti BenchMark Special Stains. Il reagente è applicato al tessuto su vetrini per microscopio e miscelato sull'intero campione.

MATERIALI FORNITI

Il flacone del reagente è fornito in supporti dotati di etichetta con codice barre da inserire nel vassoio reagenti dello strumento. Ciascun kit contiene una quantità di reagente sufficiente per 75 test:

Un flacone da 15 mL di Light Green for PAS contiene circa l'1% di Light Green SF Yellowish in una soluzione di acido acetico all'1%.

Un inserto per flaconi con cannucchia di aspirazione.

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione

Non sono necessarie ricostituzione, miscelazione, diluizione o titolazione del reagente del kit. L'ulteriore diluizione del reagente può determinare una colorazione di qualità insoddisfacente.

Il reagente in questo kit è stato diluito in maniera ottimale per l'uso sullo strumento BenchMark Special Stains.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

È possibile che non tutti i prodotti elencati nella scheda metodologica siano disponibili in tutte le aree geografiche. Rivolgersi al rappresentante dell'assistenza locale.

I reagenti e materiali seguenti possono essere necessari per la colorazione ma non sono forniti:

1. Tessuto di controllo consigliato
2. Vetrini per microscopia, caricati positivamente
3. Strumento BenchMark Special Stains

4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (n. di cat. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (n. di cat. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (n. di cat. 860-041 / 08309817001)
7. PAS Staining Kit (n. di cat. 860-014 / 05279291001)
8. Attrezzatura di laboratorio per uso generico

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Light Green for PAS deve essere conservato a 15-30 °C.

Se conservati adeguatamente, i reagenti ancora chiusi e i reagenti dopo l'apertura restano stabili fino alla data indicata sull'etichetta. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza indicata.

Non esistono segni immediatamente evidenti che indichino l'instabilità di questi reagenti; i controlli, pertanto, devono essere eseguiti contemporaneamente ai campioni sconosciuti. Contattare il rappresentante dell'assistenza locale se il materiale di controllo positivo evidenzia una riduzione nella colorazione in quanto ciò potrebbe essere indice di instabilità dei reagenti.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per l'uso con questa analisi e con BenchMark Special Stains sono necessari tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE) trattati normalmente. Il fissativo per i tessuti consigliato è formalina neutra tamponata al 10%.²

Prelevare e conservare i campioni in conformità alle indicazioni del documento CLSI M29-T2.³ Tagliare le sezioni allo spessore adeguato, ossia circa 4 µm, e collocarle su vetrini di vetro caricati positivamente.

1. Asciugare i vetrini.²
2. Stampare etichette con codice a barre adeguate.
3. Applicare le etichette con codice a barre all'estremità smerigliata dei vetrini prima di caricarli nello strumento (vedere la guida per l'utilizzatore dello strumento per informazioni sull'applicazione corretta dei vetrini).

Fare riferimento alla sezione Istruzioni per l'uso per il protocollo consigliato per lo strumento BenchMark Special Stains.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico in vitro (IVD).
2. Solo per uso professionale.
3. **ATTENZIONE:** negli Stati Uniti le leggi federali consentono la vendita di questo dispositivo solo da parte di un medico o solo su prescrizione medica. (Rx Only)
4. Non usare oltre il numero di test specificato.
5. I vetrini caricati positivamente possono essere suscettibili a sollecitazioni ambientali con conseguente colorazione inadeguata. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo tipo di vetrini, contattare il rappresentante Roche.
6. I materiali di origine umana o animale devono essere maneggiati come materiali a rischio biologico e smaltiti adottando precauzioni appropriate. In caso di esposizione, attenersi alle direttive sanitarie delle autorità responsabili.^{4,5}
7. Evitare il contatto dei reagenti con gli occhi e le membrane mucose. Se i reagenti entrano in contatto con aree sensibili, lavare con acqua abbondante.
8. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché può causare risultati non corretti.
9. Consultare le autorità locali e/o statali in relazione al metodo di smaltimento consigliato.
10. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo dispositivo, fare riferimento alla guida per l'utilizzatore dello strumento BenchMark Special Stains e alle istruzioni per l'uso di tutti i componenti necessari disponibili sul sito dialog.roche.com.
11. Le etichette di sicurezza dei prodotti seguono principalmente le linee guida GHS dell'UE. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.
12. Per segnalare sospetti incidenti gravi correlati a questo dispositivo, contattare il rappresentante locale Roche e l'autorità competente dello Stato membro o del paese in cui risiede l'utilizzatore.

ISTRUZIONI PER L'USO

Preparazione del flacone di reagente

Prima del primo utilizzo, è necessario collocare nel flacone di reagente il relativo inserto e una cannucchia di aspirazione.

Togliere dal flacone il tappo utilizzato per la spedizione e inserire l'inserto e la cannucchia nel flacone. Una volta aperto il flacone, l'inserto e la cannucchia di aspirazione devono essere lasciati all'interno dello stesso.

Procedura di colorazione

1. Caricare reagenti e vetrini nello strumento.
2. Collocare il tappo morbido nella fessura sul supporto del reagente quando il reagente è in uso.
3. Eseguire la corsa di colorazione attenendosi al protocollo consigliato in Tabella 1 e alle istruzioni della guida per l'utilizzatore.
4. Al termine della corsa di colorazione, rimuovere i vetrini dallo strumento.
5. Coprire il flacone del reagente con il tappo morbido quando il reagente non è in uso.
6. Dopo l'uso, conservare i reagenti rispettando le condizioni di conservazione consigliate.

Protocollo consigliato

È possibile visualizzare, stampare e modificare i parametri delle procedure automatizzate conformemente alla procedura descritta nella guida per l'utilizzatore dello strumento.

Le procedure che seguono consentono una certa flessibilità per soddisfare le preferenze dell'utilizzatore. Questo prodotto è stato ottimizzato per l'uso con gli strumenti BenchMark Special Stains, ma l'utilizzatore deve convalidare i risultati ottenuti con questo prodotto.

Tabella 1. Protocollo di colorazione consigliato per Light Green for PAS su uno strumento BenchMark Special Stains.

Procedura di colorazione	S PAS
Fase del protocollo	Metodo
Sparaffinatura	Selezionare per automatizzare la rimozione della paraffina.
Cottura (opzionale)	Non è selezionata un'impostazione predefinita. L'opzione consigliata è 75 °C per 4 minuti.
Light Green	Non è selezionata un'impostazione predefinita. Selezionare per attivare Light Green e le opzioni per Light Green.
Diastase for PAS Light Green* (opzionale)	Non selezionata. Questa opzione deve essere convalidata dall'utilizzatore.
Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)	L'impostazione predefinita è 45 °C per 20 minuti. Selezionare per consentire la regolazione dell'intensità della colorazione.** Selezionare una temperatura compresa tra 37 e 60 °C: 37 °C, intensità della colorazione di Schiff più lieve 60 °C, intensità della colorazione di Schiff più forte Selezionare un tempo di incubazione compreso tra 12 e 20 minuti: 12 minuti, intensità della colorazione di Schiff più lieve 20 minuti, intensità della colorazione di Schiff più forte
Hematoxylin for Light Green (opzionale)	Non è selezionata un'impostazione predefinita.

Procedura di colorazione	S PAS
Fase del protocollo	Metodo
	Selezionare per consentire l'applicazione della colorazione nucleare Hematoxylin (consigliato).

* Sono disponibili opzioni procedurali aggiuntive per i prodotti che possono essere utilizzati insieme a PAS Staining Kit e Light Green for PAS.

** Per regolare le preferenze per la colorazione, aumentare la temperatura della colorazione e il tempo di incubazione un parametro alla volta.

Processazione post-strumento consigliata

1. Risciacquare i vetrini in due diverse soluzioni di etanolo al 95% per rimuovere la soluzione residua; risciacquare quindi in altre tre diverse soluzioni di etanolo al 100%.
2. Disidratare i vetrini in tre diverse soluzioni di xilene al 100%.
3. Applicare il coverslip (LCS) con montante permanente.

Compatibile con il protocollo di applicazione dei coverslip del sistema VENTANA HE 600. Per ulteriori istruzioni fare riferimento alla guida per l'utilizzatore del sistema VENTANA HE 600.

PROCEDURA DI CONTROLLO QUALITÀ

Un esempio di materiale di controllo positivo è un tessuto umano FFPE positivo per microrganismi fungini. Il tessuto di controllo deve provenire da un campione autoptico, bioptico o chirurgico recente preparato o fissato il prima possibile in modo identico alle sezioni da testare. Tali tessuti devono consentire di controllare tutte le fasi dell'analisi, dalla preparazione del tessuto fino alla colorazione.

L'uso di una sezione di tessuto fissata o processata diversamente rispetto al campione sottoposto a test serve come controllo per tutti i reagenti e le fasi del metodo, tranne che per la fissazione e la processazione del tessuto. I componenti cellulari degli altri elementi di tessuto possono servire da controllo negativo.

La pratica di laboratorio ottimale consiste nell'includere una sezione di tessuto di controllo positivo sullo stesso vetrino del tessuto del test. Ciò contribuisce all'identificazione di eventuali errori di applicazione dei reagenti al vetrino. Il tessuto di controllo può contenere elementi con colorazione positiva e negativa e fungere da controllo sia positivo che negativo.

Il tessuto di controllo deve essere testato in ogni corsa di colorazione.

I tessuti di controllo positivi noti devono essere utilizzati solo per il monitoraggio delle prestazioni corrette di tessuti trattati e reagenti di test, non come ausilio nella formulazione della diagnosi specifica dei campioni del paziente.

Se i componenti positivi del tessuto non si colorano positivamente, i risultati ottenuti con i campioni del test devono essere considerati non validi. I risultati ottenuti con i campioni del test devono essere considerati non validi anche nel caso in cui i componenti negativi evidenzino colorazione positiva.

Eventuali discrepanze inspiegabili nei risultati dei controlli devono essere immediatamente segnalate al rappresentante dell'assistenza locale. Se i risultati del controllo qualità non soddisfano le specifiche, i risultati dei pazienti non sono validi. La causa deve essere identificata, il problema deve essere risolto e l'analisi dei campioni dei pazienti deve essere ripetuta.

INTERPRETAZIONE DELLA COLORAZIONE / RISULTATI PREVISTI

Light Green for PAS, usato in abbinamento a PAS Staining Kit, è testato per la creazione di un fondo di contrasto che contribuisca a evidenziare la presenza di microrganismi fungini.

- Microrganismi fungini: magenta
- Nuclei: blu-verde
- Fondo: verde chiaro

LIMITAZIONI SPECIFICHE

Per l'uso e la convalida di questa analisi sono stati utilizzati esclusivamente vetrini per microscopio caricati positivamente.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

PRESTAZIONI ANALITICHE

Sono stati condotti test di colorazione per la sensibilità, la specificità e la precisione; i relativi risultati sono elencati di seguito.

Sensibilità e specificità

Sono state valutate sensibilità e specificità analitiche per casi di tessuti normali e patologici. Tutti i casi di tessuto valutati (69/69) hanno superato i criteri di accettabilità della colorazione come riportato in Tabella 2 e Tabella 3.

Tabella 2. La sensibilità/specificità di Light Green for PAS è stata determinata testando i seguenti tessuti normali FFPE.

Tessuto	N. di casi con esito positivo/n. testati
Polmone	1/1
Cute	4/4

Tabella 3. La sensibilità/specificità di Light Green for PAS è stata determinata testando i seguenti tessuti patologici FFPE.

Tessuto	N. di casi con esito positivo/n. testati
Candida (vari tipi di tessuto)	8/8
Aspergillus (vari tipi di tessuto)	43/43
Blastomyces (vari tipi di tessuto)	3/3
Mucormicosi (vari tipi di tessuto)	5/5
Coccidioidomicosi (polmone)	2/2
Istoplastosi (vari tipi di tessuto)	3/3

Precisione

La precisione di Light Green for PAS è stata determinata su più corse di colorazione, più giorni, più strumenti e più lotti di reagente utilizzando vari vetrini tagliati da 3 casi di tessuto polmonare con infezione da Aspergillus e 3 casi di tessuto esofago con infezione da Candida. Tutti i criteri di accettabilità sono stati completamente soddisfatti. Gli studi sulla precisione di Light Green for PAS sono stati effettuati in conformità alla Tabella 4.

Tabella 4. Studi con vetrini sulla precisione di Light Green for PAS.

Parametri testati	N. di condizioni	N. di casi con esito positivo/n. testati
Da corsa a corsa di colorazione	3 corse di colorazione, stesso giorno	54/54
Da giorno a giorno	5 giorni	90/90
Da strumento a strumento	3 strumenti	54/54
Intra-corsa di colorazione	stesso giorno, stesso strumento	54/54
Da lotto a lotto	3 lotti	54/54

I risultati hanno dimostrato l'assenza di differenza significativa nell'intensità della colorazione tra i vetrini.

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

- Lo spessore delle sezioni può incidere su qualità e intensità della colorazione. Se la colorazione è inadeguata, contattare il rappresentante dell'assistenza locale per ottenere opportune indicazioni.
- Il tessuto necrotico o autolizzato può evidenziare una colorazione non specifica.

- Se il controllo positivo è negativo, il tessuto potrebbe essere stato raccolto, fissato o sparfinito non correttamente. Seguire la procedura corretta per la raccolta, la conservazione e la fissazione.
- Se il controllo positivo è negativo, verificare che il vetrino abbia l'etichetta con codice a barre corretta. Se l'etichetta del vetrino è corretta, verificare gli altri controlli positivi della stessa corsa di colorazione per determinare se sono stati colorati in modo adeguato.
- In presenza di eccessiva colorazione di fondo: la rimozione incompleta della paraffina può produrre artefatti di colorazione o causare l'assenza di colorazione. Se la paraffina non è stata completamente rimossa dal vetrino, ripetere la corsa di colorazione utilizzando l'opzione di sparfinitura estesa, se disponibile.
- In caso di dilavamento delle sezioni di tessuto dal vetrino, verificare che i vetrini siano caricati positivamente.
- La permanenza prolungata dei vetrini nello strumento dopo il completamento della corsa di colorazione può influire sulla qualità e sull'intensità della colorazione. Se la colorazione è inadeguata, rimuovere immediatamente i vetrini al termine della corsa di colorazione e procedere alla processazione post-strumento.
- Per l'azione correttiva, fare riferimento alla sezione Istruzioni per l'uso, alla guida per l'utilizzatore dello strumento oppure contattare il rappresentante dell'assistenza locale.

BIBLIOGRAFIA

- Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier; 2019. Accessed 02/15/2021.
- Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI Web site. <http://www.clsi.org/>. Accessed November 3, 2011.
- 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: nel presente documento si utilizza sempre un punto come separatore decimale per separare la parte intera di un numero decimale da quella frazionaria. I separatori per le migliaia non sono utilizzati.

Simboli

Ventana usa i seguenti simboli e segni in aggiunta a quelli elencati nello standard ISO 15223-1 (per gli Stati Uniti: visitare il sito dialog.roche.com per le definizioni dei simboli utilizzati):



Numero prodotto globale



Identificativo unico del dispositivo



Indica l'entità che importa il dispositivo medico nell'Unione europea

PROPRIETÀ INTELLETTUALE

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE e il logo VENTANA sono marchi commerciali di Roche. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi titolari.

Aggiunte, eliminazioni e modifiche sono segnalate da un'apposita barra a margine.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMAZIONI DI CONTATTO

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

