

PAS Staining Kit

REF

860-014

05279291001

IVD

Σ 75

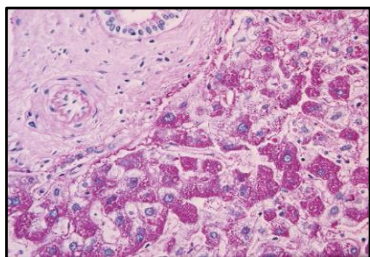


Рис. 1. Окрашивание ткани печени с помощью набора PAS Staining Kit.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор PAS Staining Kit предназначен для использования в лаборатории с целью качественного гистологического окрашивания для визуализации присутствия гликогена, базальной мембраны и грибковых организмов посредством световой микроскопии в срезах фиксированной формалином и залитой в парафин (FFPE) ткани, окрашенной на приборе BenchMark Special Stains.

Этот продукт должен интерпретироваться квалифицированным врачом-патологоанатомом в сочетании с гистологическим исследованием, соответствующей клинической информации и надлежащими средствами контроля.

Этот продукт предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

Набор PAS Staining Kit представляет собой модификацию методики, первоначально описанной McManus в 1946 году, для визуализации муцинов, гликогена, базальной мембраны и грибковых организмов посредством сочетания окисления полисахаридов йодной кислотой и окрашивания с помощью реагента Schiff¹.

PAS — это универсальный краситель для обнаружения углеводов, который можно использовать для детекции структур, содержащих высокую долю макромолекул углеводов, включая полисахариды.¹ Основным полисахаридом, идентифицируемым с помощью гистологического окрашивания в срезах тканей человека, является гликоген.¹

Окрашивание PAS обеспечивает микроскопическую визуализацию и оценку уровней гликогена в ткани.² Нарушение процессов метаболизма, в ходе которых происходит превращение глюкозы в гликоген и наоборот, может привести к накоплению гликогена.² Клинические признаки избытка гликогена могут быть различными в зависимости от органа/ткани, в которых происходит накопление.²

Окрашивание PAS также используется при исследовании базальных мембран и обычно применяется для оценки состояния гломерулярной базальной мембраны в ходе биопсии почек с подозрением на гломерулярное поражение.^{3,4} Гломерулярные болезни почек развиваются, когда имеется поражение фильтрационного барьера клубочковой ткани, при котором эритроциты или белки плазмы могут проникать через барьер.⁵ Признаки поражения могут быть различными, но включают сморщивание, коллапсирование, утолщение и истончение базальной мембраны.⁴

Окрашивание PAS также можно использовать для обнаружения гликогена, присутствующего в стенках клеток грибковых организмов, в качестве вспомогательного средства диагностики грибковой инфекции.⁶ Содержание гликогена в стенке грибковых клеток одинаково для многих грибковых организмов; поэтому окрашивание PAS является надежным методом подтверждения или исключения наличия грибковой инфекции.^{1,6}

Набор PAS Staining Kit используется врачом-патологоанатомом как вспомогательное средство для оценки уровня гликогена, диагностики гломерулярных заболеваний почек и выявления грибковой инфекции.

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

В наборе PAS Staining Kit используется реагент Periodic Acid для окисления гликолей до альдегидов.¹ Реагент Schiff вступает в реакцию с альдегидами с образованием бесцветного диальдегидного соединения, которое окрашивает гликольсодержащие

клеточные компоненты в пурпурный цвет. Модификация гематоксилина Mayer обеспечивает ядерное окрашивание в цвет от синего до пурпурного.

Данный набор оптимизирован для использования с приборами 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 Periodic Acid объемом 22 мл содержит приблизительно 1 % йодной кислоты.

Три флакона Schiff's Reagent объемом 22 мл содержат приблизительно 4 % бисульфита натрия, 2 % разбавленной соляной кислоты и 1 % хлорида парарозанилина.

Один флакон Neutralizer объемом 22 мл содержит приблизительно 1 % бисульфита натрия.

Один флакон Hematoxylin Counterstain объемом 22 мл содержит модифицированный гематоксилин Mayer.

Шесть вставок для флаконов с соломинками.

Восстановление, смешивание, разбавление, 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 PAS Staining Kit необходимо хранить при температуре 2–8 °C. Перед использованием охлажденные компоненты набора необходимо довести до комнатной температуры.

При условии надлежащего хранения невскрытые реагенты сохраняют свои свойства до даты, указанной на упаковке. Не использовать реагент после истечения срока годности, указанного на этикетке набора.

Примечание. Реагент Schiff's Reagent сохраняет свои свойства в течение одного месяца после вскрытия. При первом вскрытии флакона Schiff укажите соответствующую дату на этикетке. В набор входят два дополнительных флакона с реагентом Schiff's Reagent, позволяющие полностью использовать набор. Используйте только один флакон с реагентом Schiff's Reagent за раз.

Реагент Schiff's Reagent содержит игольчатый осадок. При расчетных уровнях этот осадок не должен влиять на эффективность анализа. Одновременно с исследованием неизвестного образца следует проводить цикл исследования контролей. 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

Обработанные стандартным способом FFPE ткани необходимо использовать с данным продуктом в приборах BenchMark Special Stains. В качестве фиксатора ткани рекомендуется использовать 10 % нейтральный забуференный формалин.⁷

Осуществляйте отбор и хранение образцов в соответствии с документом Histotechnology: A Self Instructional Text.⁷ Сделайте срезы необходимой толщины, приблизительно 4 мкм, и поместите их на положительно заряженные предметные стекла.

1. Высушите предметные стекла.⁷
2. Распечатайте соответствующие этикетки со штрихкодами.
3. 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

1. Для диагностики in vitro (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. Не использовать для проведения количества тестов, превышающего указанное.
4. Предметные стекла с положительным зарядом могут быть чувствительными к воздействию факторов окружающей среды, что ведет к некорректному окрашиванию. Обратитесь в представительство компании Roche для получения более подробной информации об использовании предметных стекол данного типа.
5. Материалы животного или человеческого происхождения должны рассматриваться как биологически опасные и утилизироваться с соблюдением надлежащих мер предосторожности. В случае контакта с ними необходимо следовать руководящим указаниям ответственных здравоохранительных органов.^{8,9}
6. Избегайте контакта реагентов с глазами и слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте пораженные участки достаточным количеством воды.
7. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.
8. 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.
9. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными компетентными органами в отношении рекомендуемого способа утилизации.
10. Маркировка безопасности продукции в первую очередь соответствует директивам ЕС по CGF. Паспорт безопасности предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
11. Чтобы сообщить о подозрениях на серьезные происшествия, связанные с данным изделием, обращайтесь в местное представительство компании Roche и в уполномоченный орган государства-участника или страны местонахождения пользователя.

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

Таблица 1. Информация об опасности.

Опасность	Код	Заявление
	H290	Может вызывать коррозию металлов.
	H314	При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги.
	H350	Может вызывать раковые заболевания.
	H373	Может повреждать органы в результате многократного или продолжительного воздействия.
	P201	Перед использованием пройти специальный инструктаж.
	P260	Избегать вдыхания взвеси или паров.

Опасность	Код	Заявление
	P280	Использовать перчатки/спецодежду/средства защиты глаз/лица/слуха.
	P303 + P361 + P353	ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Ополосните кожу водой.
	P304 + P340 + P310	ПРИ ВДЫХАНИИ: Вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему удобное для дыхания положение. Незамедлительно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу.
	P305 + P351 + P338 + P310	ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Аккуратно ополосните водой несколько раз. Снимите контактные линзы, если они имеются и это легко осуществить. Продолжайте промывать. Незамедлительно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу.
	P308 + P313	В случае воздействия или подозрения на воздействие: обратиться к врачу.

EUN208: Содержит йодат натрия. Может вызывать аллергические реакции.

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

1. Загрузите реагенты и предметные стекла в прибор.
2. Положите мягкий колпачок в отверстие держателя реагентов, если реагенты используются.
3. Выполните цикл окрашивания в соответствии с рекомендованным протоколом, приведенным в Таблица 2, и инструкциями, указанными в руководстве пользователя.
4. По завершении цикла извлеките предметные стекла из прибора.
5. Если флакон с реагентом не используется, закройте его мягким колпачком.
6. После использования храните реагенты с соблюдением рекомендованных условий хранения.

Рекомендованный протокол

Параметры автоматизированных процедур можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в соответствии с процедурой, приведенной в руководстве пользователя прибора.

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

Таблица 2. Рекомендованный протокол окрашивания для PAS Staining Kit на приборе BenchMark Special Stains.

Процедура окрашивания	S PAS
Этап протокола*	Метод
Депарафинизация	Выберите автоматическое удаление парафина.
Прогрев (дополнительно)	Параметр по умолчанию не выбран. Рекомендуется 75 °C в течение 4 минут.
Optimize PAS	Выберите для включения настройки PAS Schiff's и Hematoxylin.
Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)	По умолчанию — 45 °C в течение 20 минут.

Процедура окрашивания	S PAS
Этап протокола*	Метод
	Выберите включение регулировки интенсивности окрашивания.** Выберите температуру 37-60 °C: 37 °C — более светлая интенсивность окрашивания Schiff; 60 °C — более темная интенсивность окрашивания Schiff. Выберите продолжительность инкубации 12-20 минут: 12 минут — более светлая интенсивность окрашивания Schiff 20 минут — более темная интенсивность окрашивания Schiff.
PAS Hematoxylin	По умолчанию — 8 минут. Выберите включение регулировки времени инкубации:** 4 минуты — более светлое ядерное окрашивание; 12 минут — более темное ядерное окрашивание.

* Чтобы настроить предпочтительные значения для окрашивания, увеличивайте температуру окрашивания и продолжительность инкубации по одному параметру за раз.

** Для регулировки параметров окрашивания следует увеличивать температуру окрашивания и время 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 ксилоле, трижды сменив его.
3. Накройте покровным стеклом, используя постоянную заливающую среду.
4. Совместим с протоколом автоматического накрывания системы VENTANA HE 600. Более подробные инструкции см. в руководстве пользователя системы VENTANA HE 600.

ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Образец положительного тканевого контроля — фиксированная формалином и залитая в парафин (FFPE) человеческая ткань богатая гликогеном, например, образец скелетной мускулатуры или печени. В качестве контрольной ткани следует использовать свежие образцы тканей, полученные при вскрытии, биопсии или в ходе хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать по точно такой же процедуре, какая используется для тестируемых образцов. С помощью такой ткани необходимо 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 стекло с исследуемой тканью. 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 положительного 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 PAS Staining Kit проходит проверку на выявление гликогена, грибковых организмов и базальных мембран.

- Гликоген: пурпурный цвет
- Муцины:⁷ пурпурный цвет
- Базальная мембрана: пурпурный цвет
- Грибковые организмы: пурпурный цвет
- Ядра: от синего до фиолетового
- Фон: розовый

ОСОБЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

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

Реагент Schiff's Reagent содержит игольчатый осадок. При расчетных уровнях этот осадок не должен влиять на эффективность анализа.

На предметных стеклах, окрашенных с помощью набора PAS Staining Kit, наблюдается осадок кубической формы от розового до красного цвета. При расчетных уровнях этот осадок не должен мешать интерпретации результатов анализа.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

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

Чувствительность и специфичность

Оценивалась аналитическая чувствительность и специфичность для случаев здоровых и пораженных тканей. Все проверенные ткани (61/61) удовлетворяли критериям приемлемого окрашивания, и результаты представлены в Таблица 3 и Таблица 4.

Таблица 3. Чувствительность/специфичность набора PAS Staining Kit определялась путем тестирования фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) здоровых тканей.

Ткань	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/число тестов
Почка	5 / 5
Печень	5 / 5
Тонкий кишечник	5 / 5
Скелетная мускулатура	10 / 10

Таблица 4. Чувствительность/специфичность окрашивания с помощью набора PAS Staining Kit определялась путем тестирования FFPE пораженных тканей.

Ткань	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/число тестов
Кандидоз (различные типы ткани)	8 / 8
Аспергиллез (различные типы ткани)	10 / 10

Ткань	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/число тестов
Фокально-сегментарный гломерулосклероз (почка)	4 / 4
Гломерулярная болезнь (почка)	5 / 5
Мембранозный гломерулонефрит (почка)	1 / 1
Мембранопролиферативный гломерулонефрит (почка)	2 / 2
Волчаночная нефропатия (почка)	4 / 4
Диабетический гломерулосклероз (почка)	2 / 2

Прецизионность

Прецизионность набора PAS Staining Kit определялась между несколькими циклами, днями, приборами и партиями реагентов с использованием нескольких срезов 3 случаев здоровой ткани печени пациентов и 3 случаев здоровой ткани почек. Было достигнуто соответствие всем критериям приемлемости. Исследования прецизионности для набора PAS Staining Kit проводились в соответствии с данными Таблица 5.

Таблица 5. Исследования прецизионности при окрашивании предметных стекол с помощью набора PAS Staining Kit.

Тестируемые параметры	Количество условий	Число предметных стекол, которые удовлетворяли критериям / Число анализов
Между циклами	3 цикла, тот же день	54 / 54
Между днями	5 дней	88 / 90
Между приборами	3 прибора	52 / 54
В пределах одного цикла	Тот же день, тот же прибор	53 / 54
Между партиями	3 партии	54 / 54

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Характеристики чувствительности и специфичности, соответствующие предусмотренному назначению этого изделия, указаны в разделе, посвященном аналитической эффективности. Кроме того, опубликованные данные, касающиеся изделия, оценивались путем систематического обзора литературы, и подтверждают использование изделия в соответствии с его предусмотренным назначением.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

- Толщина среза может оказывать влияние на качество и интенсивность окрашивания. Если результаты окрашивания неудовлетворительные, обратитесь за помощью к представителю региональной службы поддержки.
- Некротическая или автолизированная ткань может давать неспецифическое окрашивание.
- Если результаты положительного контроля отрицательные, возможно, ткани неправильно собирались, фиксировались или депарафинизировались. Соблюдайте методику забора, хранения и фиксации образцов.
- 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.
- Причиной избыточного фонового 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.

- Если срезы ткани смываются с предметного стекла, проверьте предметные стекла и убедитесь, что они имеют положительный заряд.
- 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.
- Способы устранения проблем см. в разделе «Инструкция по применению» или руководстве пользователя прибора. Эту информацию также можно получить у представителя региональной службы поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier; 2019. Accessed 02/15/2021.
- Kanungo S, Wells K, Tribett T, et al. Glycogen Metabolism and Glycogen Storage Disorders. Ann Transl Med. 2018;6(24):474.
- McManus JFA. The Periodic Acid Routine Applied to the Kidney. Am J Pathol. 1948;64:3-653.
- Cathro HP, Shen SS, Truong LD. Diagnostic Histochemistry in Medical Diseases of the Kidney. Semin Diagn Pathol. 2018;35(6):360-369.
- 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.
- Guarner J, Brandt ME. Histopathologic Diagnosis of Fungal Infections in the 21st Century. Clin Microbiol Rev. 2011;24(2):247-280.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology: A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- 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.

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

Символы

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

GTIN

Глобальный номер товара

Rx only

Для США: Внимание Федеральное законодательство разрешает продажу этой продукции только медицинским работникам или по их заказу.

ИСТОРИЯ РЕДАКЦИЙ

Ред.	Обновления
K	Обновлены раздел «Предупреждения и меры предосторожности» и текущий шаблон.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

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

© Ventana Medical Systems, Inc., 2024.

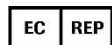
For USA: Rx only

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



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

www.ventanamedical.com



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

