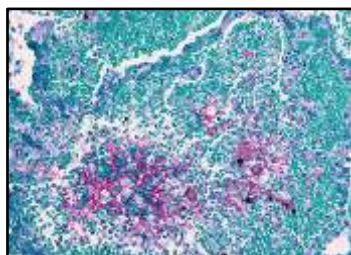


Light Green for PAS

REF 860-010

05279267001

IVD  75



Obr. 1. Barvení plísňových organismů v plicní tkáni pomocí barviva Light Green for PAS.

URČENÉ POUŽITÍ

Barvivo Light Green for PAS je určeno pro laboratorní použití při barvení necílových složek tkáně a k zajištění kontrastu s cílovými barvivy v řezech tkáně fixované formalínem, zalité parafínem (FFPE) na přístroji BenchMark Special Stains.

Tato reagentie slouží jako kontrastní barvivo při speciálním barvení.

Tento produkt je určen pro diagnostické použití in vitro (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Reagentie Light Green for PAS je kontrastní barvivo v jedné lahvičce, které se používá ve spojení se soupravou PAS Staining Kit. Souprava PAS Staining Kit je modifikací techniky původně popsané McManusem v roce 1946, která slouží k vizualizaci mucinů, glykogenu, bazální membrány a plísňových organismů prostřednictvím kombinace oxidace polysacharidů kyselinou jodistou a barvení Schiffovým činidlem.¹

PRINCIP POSTUPU

Souprava PAS Staining Kit používá k oxidaci glykolů na aldehydy reagentii Periodic Acid (kyselinu jodistou). Schiffovo činidlo tvoří bezbarvou dialdehydovou sloučeninu, která se mění na fuchsinové zbarvení buněčných složek obsahujících glykol.² Reagentie Light Green for PAS se používá místo reagentie Hematoxylin, dodávané se soupravou PAS Staining Kit, anebo spolu s ní. Reagentie Light Green for PAS barví pozadí světle zeleně, zatímco souprava PAS Staining Kit barví plísňové prvky tkáně fuchsinovou barvou.

Tato souprava je optimalizována pro použití na přístrojích BenchMark Special Stains. Reagentie se nanáší na tkáň na mikroskopických sklíčkách a promíchá se po celém vzorku.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Lahvička s reagentií se dodává v nosičích označených čárovým kódem, které se vkládají do zásobníku reagentie přístroje. Každá souprava obsahuje dostatek reagentie pro 75 testů:

Jedna 15mL lahvička reagentie Light Green for PAS obsahuje přibližně 1 % barviva Light Green SF Yellowish v 1% roztoku kyseliny octové.

Jedna vložka do lahvičky s odsávací hadičkou.

Rekonstituce, mísení, ředění, titrace

Nevyžaduje se rekonstituce, mísení, ředění ani titrace reagentie ze soupravy. Další ředění reagentie může vést k neuspokojivé kvalitě barvení.

Reagentie v této soupravě byla optimálně naředěna pro použití na přístroji BenchMark Special Stains.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Všechny produkty uvedené v metodickém listu nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obratě se na místní servisní zastoupení.

Následující reagentie a materiály mohou být při barvení potřebné, nejsou však součástí dodávky:

1. Doporučená kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklíčka, kladně nabitá
3. Přístroj BenchMark Special Stains

4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (kat. č. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (kat. č. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (kat. č. 860-041 / 08309817001)
7. PAS Staining Kit (kat. č. 860-014 / 05279291001)
8. Obecné laboratorní vybavení

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Reagentie Light Green for PAS by měla být skladována při teplotě 15–30 °C.

Při správném skladování jsou otevřené i neotevřené reagentie stabilní až do data uvedeného na štítku. Po uplynutí data expirace reagentii nepoužívejte.

Neexistují žádné zřejmé známky nestability těchto reagentií, proto je třeba neznámé vzorky analyzovat souběžně s kontrolami. Obratě se na místní servisní zastoupení, pokud materiál pro pozitivní kontrolu vykazuje snížení zbarvení, protože by to mohlo naznačovat nestabilitu reagentií.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití s tímto testem a přístrojem BenchMark Special Stains jsou vyžadovány tkáně fixované formalínem, zalité parafínem (FFPE), zpracované běžným způsobem.

Doporučeným vhodným fixativem na tkáň je 10% neutrální pufrovaný formalin.²

Odběr a skladování vzorků provádějte podle dokumentu M29-T2 CLSI.³ Připravte řezy vhodně tloušťky, přibližně 4 µm, a umístěte je na kladně nabitá podložní sklíčka.

1. Sklíčka osušte.²
2. Vytiskněte příslušný štítek (příslušné štítky) s čárovým kódem.
3. Před vložením sklíček do přístroje nalepte na matný konec sklíček štítky s čárovým kódem (správné použití štítků popisuje uživatelská příručka přístroje).

Doporučený protokol pro přístroj BenchMark Special Stains najdete v části Návod k použití.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno k diagnostickému použití in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. **UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony USA omezují prodej tohoto prostředku pouze lékařům nebo na jejich objednávku. (Rx Only)
4. Nepoužívejte nad rámec specifikovaného počtu testů.
5. Kladně nabitá sklíčka mohou být citlivá na zátěž prostředí, což má za následek nevhodné zbarvení. Požádejte zástupce společnosti Roche o další informace o tom, jak používat tyto typy sklíček.
6. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s nebezpečným biologickým materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními. V případě expozice je potřeba se řídit zdravotnickými směrnici odpovědných orgánů.^{4,5}
7. Zabraňte kontaktu reagentií s očima a sliznicemi. Jestliže se reagentie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
8. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagentií, mohla by způsobit nepresnost výsledků.
9. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.
10. Další informace o používání tohoto prostředku obsahuje uživatelská příručka přístroje BenchMark Special Stains a návody k použití všech nezbytných součástí, které naleznete na internetových stránkách dialog.roche.com.
11. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.
12. Pro nahlášení podezřelých závažných incidentů týkajících se tohoto prostředku se obraťte na místního zástupce společnosti Roche a kompetentní orgány členského státu nebo země, ve které uživatel provozuje činnost.

NÁVOD K POUŽITÍ

Příprava lahvičky s reagentií

Před prvním použitím musí být do lahvičky na reagentie vložena vložka a odsávací hadička.

Sejměte přepravní víčko z lahvičky a vložte do ní vložku a hadičku. Po otevření lahvičky by vložka a odsávací hadička měly být ponechány v lahvičce.

Postup barvení

1. Vložte reagenty a sklička do přístroje.
2. Při používání reagenty vložte měkké víčko do otvoru na držáku reagenty.
3. Barvicí cyklus proveďte podle doporučeného protokolu v Tab. 1 a pokynů uvedených v uživatelské příručce.
4. Po dokončení cyklu vyjměte sklička z přístroje.
5. Pokud se reagenty nepoužívá, měkkým víčkem lahvičku na reagenty uzavřete.
6. Po použití reagenty skladujte podle doporučených podmínek pro skladování.

Doporučený protokol

Parametry automatických procesů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v uživatelské příručce přístroje.

Následující postupy lze flexibilně přizpůsobit preferencím uživatele. Tento produkt byl optimalizován pro použití s přístroji BenchMark Special Stains, ale uživatel musí výsledky získané s tímto produktem validovat.

Tab. 1. Doporučený barvicí protokol pro reagenty Light Green for PAS na přístroji BenchMark Special Stains.

Postup barvení	S PAS
Postup protokolu	Metoda
Odparafinování	Vyberte pro automatické odstranění parafinu.
Sušení (volitelné)	Výchozí nastavení není vybráno. Doporučuje se 75 °C po dobu 4 minut.
Light Green	Výchozí nastavení není vybráno. Vyberte, zda chcete povolit Light Green a možnosti pro Light Green.
Diastase for PAS Light Green* (volitelné)	Nezvoleno. Tuto možnost musí uživatel validovat.
Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)	Výchozí nastavení je 45 °C po dobu 20 minut. Vyberte možnost nastavení intenzity barvení.** Vyberte teplotu 37 – 60 °C: 37 °C, světlejší intenzita barvení Schiffovým činidlem. 60 °C, tmavší intenzita barvení Schiffovým činidlem Vyberte dobu inkubace od 12 do 20 minut: 12 minut, světlejší intenzita barvení Schiffovým činidlem 20 minut, tmavší intenzita barvení Schiffovým činidlem
Hematoxylin for Light Green (volitelné)	Výchozí nastavení není vybráno. Vyberte, zda chcete povolit použití jaderného zbarvení reagenty Hematoxylin (doporučeno).

*Další možnosti postupu jsou k dispozici pro produkty, které lze použít ve spojení se soupravou PAS Staining Kit a reagenty Light Green for PAS.

**Chcete-li upravit preference barvení, zvyšujte teplotu barvení a dobu inkubace po jednom parametru.

Doporučené zpracování po obarvení v přístroji

1. Opláchněte sklička ve dvou dávkách 95% ethanolu, abyste odstranili zbylý roztok, a poté třemi dávkami ve 100% ethanolu.
2. Dehydratujte sklička ve třech dávkách 100% xylenu.
3. Krycí skličko s trvalým fixačním médiem.

Kompatibilní s protokolem podavače krycích sklíček systému VENTANA HE 600. Další pokyny najdete v uživatelské příručce systému VENTANA HE 600.

POSTUP KONTROLY KVALITY

Příkladem materiálu pro pozitivní kontrolu může být lidská tkáň FFPE, o níž je známo, že je pozitivní na plísňové organismy. Kontrolní tkáň by měla být čerstvě vzorky z pitvy, biopsie nebo vzorky operace, připravené a fixované co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy. Takové tkáně mohou monitorovat všechny kroky analýzy – od přípravy tkáně až po barvení.

Použití tkáňového řezu fixovaného nebo zpracovaného odlišně od testovaného vzorku poskytuje kontrolu všech reagentů a kroků metody kromě fixace a zpracování tkání. Jako negativní kontrola mohou sloužit buněčné složky jiných tkáňových prvků.

Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné skličko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagenty na skličko pak lze snáze zjistit případné závady. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené prvky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu.

V každém cyklu je třeba testovat také kontrolní tkáň.

Známe pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce zpracovaných tkání a testovacích reagentů, nikoli jako pomůcku k formulování konkrétní diagnózy u patientských vzorků.

Pokud pozitivní složky tkání pozitivní zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky u testovaných vzorků za neplatné. Pokud negativní složky vykazují pozitivní barvení, měly by být výsledky pro patientské vzorky považovány za neplatné.

Nevysvětlitelné rozpory ve výsledcích kontrol je třeba neprodleně nahlásit na vaše místní servisní zastoupení. Pokud výsledky kontroly kvality nesplňují specifikace, výsledky pacienta jsou neplatné. Musí být identifikována a odstraněna příčina a patientské vzorky zanalyzovány znovu.

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Reagenty Light Green for PAS, používané ve spojení se soupravou PAS Staining Kit, je testována na poskytování kontrastního pozadí, které pomáhá při průkazu plísňových organismů.

- Plísňové organismy: fuchsinové
- Jádra: modrozelená
- Pozadí: světle zelené

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Pro tento test byla použita a validována pouze mikroskopická sklička s kladným nábojem.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Níže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se senzitivity, specifity a preciznosti.

Senzitivita a specifita

Byla hodnocena analytická senzitivita a specifita pro případy běžných a nemocných tkání. U všech hodnocených případů tkání (69/69) bylo splněno přijatelné barvení, jak je uvedeno v tabulce 2 a tabulce 3.

Tab. 2. Senzitivita/specifita reagenty Light Green for PAS byla stanovena testováním následujících běžných tkání FFPE.

Tkáň	Počet úspěšných / počet testovaných
Plicce	1/1
Kůže	4/4

Tab. 3. Senzitivita/specifita soupravy Light Green for PAS byla stanovena testováním následujících nemocných tkání FFPE.

Tkáň	Počet úspěšných / počet testovaných
Candida (různé typy tkání)	8/8
Aspergillus (různé typy tkání)	43/43
Blastomyces (různé typy tkání)	3/3

Tkáň	Počet úspěšných / počet testovaných
Mukormykóza (různé typy tkání)	5/5
Kokcidioidomykóza (plíce)	2/2
Histoplazmóza (různé typy tkání)	3/3

Preciznost

Preciznost reagentie Light Green for PAS byla stanovena pro několik cyklů, dnů, nástrojů a šarží reagentií s použitím několika sklíček s připravenými řezy ze 3 případů plicní tkáně s aspergilovou infekcí a 3 případů jícnové tkáně s kandidovou infekcí. Všechna kritéria přijatelnosti byla zcela splněna. Studie preciznosti pro reagentii Light Green for PAS byly provedeny podle tabulky 4.

Tab. 4. Studie preciznosti se sklíčky pro reagentii Light Green for PAS.

Testované parametry	Počet podmínek	Počet vyhovujících sklíček / počet testovaných sklíček
Mezi cykly	3 cykly, stejný den	54/54
Mezi dny	5 dní	90/90
Mezi přístroji	3 přístroje	54/54
V rámci cyklu	Stejný den, stejný přístroj	54/54
Mezi šaržemi	3 šarže	54/54

Výsledky neprokázaly mezi sklíčky žádný významný rozdíl v intenzitě barvení.

ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

1. Tloušťka řezu může ovlivnit kvalitu a intenzitu barvení. Pokud barvení neodpovídá, požádejte o pomoc místního servisního zastoupení.
2. Nekrotická nebo autolyzovaná tkáň může vykazovat nespecifické zabarvení.
3. Pokud je pozitivní kontrola negativní, tkáň mohla být nesprávně odebrána, fixována nebo odparafinována. Při odběru, skladování a fixaci dodržujte správný postup.
4. Pokud je pozitivní kontrola negativní, zkontrolujte, zda má sklíčko správný štítek s čárovým kódem. Pokud je sklíčko správně označeno, zkontrolujte ostatní pozitivní kontroly ze stejného cyklu, abyste zjistili, zda byly kontroly správně obarveny.
5. Dojde-li k nadměrnému barvení pozadí: neúplné odstranění parafínu může způsobit vznik artefaktů barvení nebo nemusí dojít k žádnému barvení. Pokud ze sklíčka nebyl odstraněn veškerý parafín, barvicí cyklus zopakujte s použitím rozšířené možnosti odparafinování, je-li k dispozici.
6. Pokud se tkáňové řezy ze sklíčka vymývají, ujistěte se, že jsou sklíčka kladně nabitá.
7. Prodloužené setrvávání sklíček v přístroji po dokončení cyklu může ovlivnit kvalitu a intenzitu barvení. Pokud je barvení nevhodné, vyjměte sklíčka ihned po skončení cyklu a pokračujte ve zpracování po obarvení v přístroji.
8. Nápravná opatření najdete v části Návod k použití, v uživatelské příručce přístroje, případně se obraťte na místní servisní zastoupení.

LITERATURA

1. Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier; 2019. Accessed 02/15/2021.
2. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI Web site. <http://www.clsi.org/>. Accessed November 3, 2011.
4. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.

5. 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.

POZNÁMKA: V tomto dokumentu se jako symbol pro oddělování celého čísla a desetinných míst používá vždy tečka. Oddělovače pro tisíce se nepoužívají.

Symboly

Společnost Ventana používá následující symboly a znaky nad rámec uvedený v normě ISO 15223-1 (pro USA: definici použitých symbolů naleznete na internetových stránkách dialog.roche.com):



Číslo položky Global Trade



Jedinečná identifikace prostředku



Označuje subjekt dovážející zdravotnický prostředek do Evropské unie

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE a logo VENTANA jsou ochranné známky společnosti Roche. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Přidání, odstranění nebo změny jsou označeny pruhem změn na okraji.

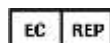
© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTNÍ INFORMACE



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

