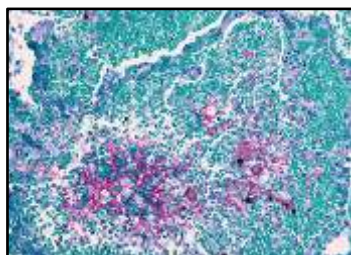


Light Green for PAS

REF

860-010

05279267001

IVD
 75


Rys. 1. Organizmy grzybicze w tkance płuca wybarwione przy użyciu odczynnika Light Green for PAS.

Ten odczynnik jest przeznaczony do użytku jako barwnik kontrastowy stosowany w barwieniu technikami specjalnymi.

Ten produkt jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD).

STRESZCZENIE I INFORMACJE OGÓLNE

Odczynnik Light Green for PAS to barwnik kontrastowy zawarty w pojedynczej butelce, używany w połączeniu z zestawem PAS Staining Kit. Zestaw PAS Staining Kit jest modyfikacją techniki pierwotnie opisanej przez McManusa w roku 1946 przeznaczonej do uwidaczniania mucyn, glikogenu, błony podstawnej i organizmów grzybiczych poprzez połączenie utleniania polisacharydów przy użyciu kwasu nadjodowego i barwienia przy użyciu odczynnika Schiffa.¹

ZASADA DZIAŁANIA

W zestawie PAS Staining Kit odczynnik Periodic Acid służy do utleniania glikoli do aldehydów. Odczynnik Schiffa tworzy bezbarwny związek dialdehydu, który w strukturach komórkowych zawierających glikol jest przekształcany na barwny produkt reakcji w kolorze czerwono-fioletowym (magenta).² Odczynnik Light Green for PAS jest używany zamiast lub w połączeniu z odczynnikiem Hematoxylin dostarczanym z zestawem PAS Staining Kit. Odczynnik Light Green for PAS barwi tło na kolor jasnozielony, natomiast zestaw PAS Staining Kit barwi organizmy grzybicze w tkance na kolor czerwono-fioletowy (magenta).

Zestaw został zoptymalizowany do użytku w aparatach BenchMark Special Stains. Odczynnik jest nanoszony na tkankę umieszczoną na szkiełku mikroskopowym, a następnie mieszany na całej powierzchni preparatu.

DOSTARCZONE MATERIAŁY

Fiolka z odczynnikiem jest dostarczana w oznaczonym etykietą z kodem kreskowym nośniku, gotowym do umieszczenia w tacy na odczynniku aparatu. Każdy zestaw zawiera odczynnik w ilości wystarczającej do przeprowadzenia 75 testów:

Jedna fiołka 15 mL odczynnika Light Green for PAS zawiera zieleń jasną SF żółtawą w stężeniu ok. 1% w roztworze o 1% stężeniu kwasu octowego.

Jedna wkładka do fiołki ze słomką do zasysania.

Odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie

Odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie lub miareczkowanie odczynnika wchodzącego w skład zestawu nie jest konieczne. Dalsze rozcieńczanie odczynnika może doprowadzić do uzyskania wyników barwienia o niezadowalającej jakości.

Odczynnik zawarty w tym zestawie został rozcieńczony w sposób optymalny do użytku w aparacie BenchMark Special Stains.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Nie wszystkie produkty przedstawione w arkuszu metody są dostępne we wszystkich regionach geograficznych. Odpowiednich informacji udzieli lokalny przedstawiciel działu pomocy technicznej.

Wymienione niżej odczynniki i materiały mogą być potrzebne do przeprowadzenia barwienia, ale nie są dostarczane:

1. Zalecana tkanka kontrolna
2. Szkiełka mikroskopowe, naładowane dodatnio
3. Aparat BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (nr kat. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (nr kat. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (nr kat. 860-041 / 08309817001)
7. PAS Staining Kit (nr kat. 860-014 / 05279291001)
8. Sprzęt laboratoryjny do ogólnego użytku

PRZECZOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Odczynnik Light Green for PAS należy przechowywać w temperaturze 15–30°C.

Prawidłowo przechowywane odczynniki (otwierane lub nieotwierane) zachowują stabilność do daty podanej na etykiecie. Nie należy używać odczynnika po upływie daty ważności.

Nie stwierdzono jednoznacznych oznak, które mogłyby wskazywać na niestabilność tych odczynników; dlatego podczas badania nieznanymi preparatami należy jednocześnie wykonać badanie kontroli. Jeśli w materiale do kontroli dodatniej doszło do obniżenia intensywności barwienia należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej, ponieważ może to wskazywać na niestabilność odczynnika.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Do stosowania z tym testem oraz aparatem BenchMark Special Stains wymagane są rutynowo przygotowane tkanki utwalone w formalinie i zatopione w parafinie (FFPE). Zalecany środek do utwalania tkanek jest obojętna zbuforowana formalina w stężeniu 10%.²

Próbki należy pobierać i przechowywać zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie M29-T2 instytutu CLSI.³ Tkanki należy pociąć na skrawki o odpowiedniej grubości (około 4 µm) i umieścić je na dodatnio naładowanych szkiełkach podstawowych.

1. Osuszyć preparaty.²
2. Wydrukować etykiety z odpowiednimi kodami kreskowymi.
3. Przed załadowaniem preparatów do aparatu na matowy koniec szkiełka nakleić etykiety z kodami kreskowymi (informacje dotyczące prawidłowego naklejania etykiet znajdują się w przewodniku użytkownika aparatu).

Informacje na temat zalecanego protokołu barwienia w aparacie BenchMark Special Stains znajdują się w części dotyczącej instrukcji stosowania.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD).
2. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.
3. **PRZESTROGA:** W Stanach Zjednoczonych prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zlecenie lekarza. (Rx Only)
4. Nie wykonywać większej liczby testów niż liczba określona na etykiecie.
5. Naładowane dodatnio szkiełka podstawowe mogą być podatne na czynniki środowiskowe powodujące niewłaściwe barwienie. Aby uzyskać więcej informacji na temat postępowania ze szkiełkami tego typu, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.
6. Materiały pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego należy traktować jako materiały stanowiące zagrożenie biologiczne i usuwać je z zachowaniem właściwych środków ostrożności. W przypadku narażenia należy przestrzegać wytycznych określonych w dyrektywach wydanych przez właściwe organy.^{4,5}
7. Unikać kontaktu odczynników z oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu odczynników z wrażliwymi miejscami splukiwać obficie dużą ilością wody.
8. Unikać skażenia mikrobiologicznego odczynników ze względu na możliwość otrzymania nieprawidłowych wyników.
9. W celu uzyskania informacji na temat zalecanej metody utylizacji produktu należy skontaktować się z władzami lokalnymi i/lub krajowymi.

10. Aby uzyskać więcej informacji dotyczących stosowania tego wyrobu, należy zapoznać się z przewodnikiem użytkownika aparatu BenchMark Special Stains oraz instrukcjami stosowania wszystkich wymaganych elementów. Instrukcje te można znaleźć pod adresem dialog.roche.com.
11. Oznakowanie dotyczące bezpieczeństwa produktu jest przede wszystkim zgodne z wytycznymi GHS UE. Karta charakterystyki jest dostępna na życzenie profesjonalnego użytkownika.
12. W celu zgłoszenia podejrzenia wystąpienia poważnych incydentów związanych z tym wyrobem należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche i właściwym organem państwa członkowskiego lub kraju, którego rezydentem jest użytkownik.

INSTRUKCJA STOSOWANIA

Przygotowanie fiołki z odczynnikami

Do fiołki z odczynnikami, przed jej pierwszym użyciem, należy włożyć wkładkę do fiołki ze słomką do zasysania.

Z fiołki należy zdjąć zatyczkę, a następnie umieścić w niej wkładkę ze słomką do zasysania. Wkładka i słomka do zasysania powinny pozostać w fiołce po jej otwarciu.

Procedura barwienia

1. Odczynniki i preparaty umieścić w aparacie.
2. Gdy odczynnik jest używany, miękką zatyczkę umieścić w otworze uchwytu na odczynniku.
3. Cykl barwienia przeprowadzić zgodnie z zalecanym protokołem opisanym w Tab. 1 oraz instrukcjami zawartymi w przewodniku użytkownika.
4. Po zakończeniu cyklu barwienia wyjąć preparaty z aparatu.
5. Jeśli odczynnik nie jest już używany zamknąć fiołkę z odczynnikami miękką zatyczką.
6. Odczynniki, gdy nie są już używane, przechowywać zgodnie z zalecanymi warunkami przechowywania.

Zalecany protokół

Parametry procedur zautomatyzowanych mogą być wyświetlane, drukowane i edytowane zgodnie z procedurą opisaną w przewodniku użytkownika aparatu.

Niniejsze procedury można dostosowywać zgodnie z preferencjami użytkownika. Ten produkt został zoptymalizowany do użytku w aparacie BenchMark Special Stains, jednak użytkownik musi zwalidować wyniki uzyskiwane za pomocą tego produktu.

Tab. 1. Zalecany protokół barwienia przy użyciu odczynnika Light Green for PAS w aparacie BenchMark Special Stains.

Procedura barwienia	S PAS
Etap protokołu	Metoda
Odfarbowanie	Wybór tej opcji powoduje zautomatyzowane usuwanie parafiny podczas procedury.
Wypiekanie (opcjonalne)	Wartość domyślna nie jest wybrana. Zalecane 4 minuty w temperaturze 75°C.
Light Green	Wartość domyślna nie jest wybrana. Wybrać, aby zastosować odczynnik Light Green i zmieniać parametry dla odczynnika Light Green.
Diastase for PAS Light Green* (opcjonalne)	Niewybrane. Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację tej opcji.
Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)	Domyślne ustawienie to 45°C przez 20 minut. Wybrać, aby dostosować intensywność barwienia.** Można wybrać temperaturę 37–60°C: 37°C — jaśniejsze, mniej intensywne wybarwienie przy użyciu odczynnika Schiffa 60°C — ciemniejsze, intensywniejsze wybarwienie przy użyciu odczynnika Schiffa

Procedura barwienia	S PAS
Etap protokołu	Metoda
	Można wybrać czas inkubacji od 12 do 20 minut: 12 minut — jaśniejsze, mniej intensywne wybarwienie przy użyciu odczynnika Schiffa 20 minut — ciemniejsze, intensywniejsze wybarwienie przy użyciu odczynnika Schiffa
Hematoxylin for Light Green (opcjonalne)	Wartość domyślna nie jest wybrana. Wybrać, aby wykonać barwienie jądrowe przy użyciu odczynnika Hematoxylin (zalecane).

* Dodatkowe opcje procedury są dostępne dla produktów, które mogą być używane z zestawem PAS Staining Kit i odczynnikiem Light Green for PAS.

** Aby dostosować preferencje barwienia, należy naprzemiennie zwiększać parametry dotyczące temperatury barwienia i czasu inkubacji.

Zalecane procedury postępowania po obróbce w urządzeniu

1. W celu usunięcia pozostałości roztworu preparaty płukać w 95% etanolu (płukać dwukrotnie, po pierwszym płukaniu roztwór należy wymienić na nowy i przepłukać preparaty ponownie), a następnie w 100% etanolu (preparaty należy płukać trzykrotnie, za każdym razem wymieniając roztwór na nowy).
2. Odwozić preparaty poprzez płukanie w 100% ksylenu (preparaty należy płukać trzykrotnie, za każdym razem wymieniając roztwór na nowy).
3. Nałożyć szkiełko nakrywkowe ze środkiem do ostatecznego zatapiania.

Protokół nakładania szkiełek nakrywkowych zgodny z systemem VENTANA HE 600.

Aby uzyskać więcej informacji na ten temat, należy zapoznać się z przewodnikiem użytkownika systemu VENTANA HE 600.

PROCEDURA KONTROLI JAKOŚCI

Przykładowy materiał do kontroli dodatniej to ludzka tkanka FFPE o znanym dodatnim barwieniu względem organizmów grzybiczych. Tkanki kontrolne powinny być próbkami świeżo pobranymi z autopsji, biopsji lub chirurgicznie i powinny zostać przygotowane lub utralone jak najszybciej w identyczny sposób jak skrawki badane. Takie tkanki powinny być wykorzystywane do monitorowania wszystkich kroków procedury, od przygotowania tkanki po jej barwienie.

Użycie skrawka tkanki utralonego lub poddanego obróbce w sposób inny niż próbka badana umożliwia kontrolę wszystkich odczynników oraz kroków metody z wyjątkiem utralania i obróbki tkanki. Składniki komórkowe obecne w innych elementach tkanek mogą służyć jako kontrole ujemne.

Zgodnie z optymalną praktyką laboratoryjną na szkiełko, na którym jest tkanka badana, należy dodać skrawek tkanki będący kontrolą dodatnią. To pomoże zidentyfikować wszelkie niepowodzenia związane z nałożeniem odczynników na preparat. Tkanki kontrolne mogą zawierać zarówno elementy dające odczyn dodatni, jak i ujemny, a zatem mogą być stosowane jednocześnie jako dodatnia i ujemna próba kontrolna.

W każdym cyklu barwienia należy uwzględnić tkankę kontrolną.

Znane dodatnie kontrole tkankowe powinny być stosowane wyłącznie w celu monitorowania prawidłowego przebiegu barwienia poddanych obróbce tkanek i działania odczynników testowych, a nie pomocniczo do określania rozpoznania dla próbek pacjentów.

Jeśli nie udaje się potwierdzić dodatniego barwienia w dodatnich elementach tkanki, należy uznać, że wyniki próbek badanych są nieważne. Jeśli elementy ujemne wykazują barwienie dodatnie, również należy uznać, że wyniki badanych próbek pacjenta są nieważne.

Niewyjaśnione rozbieżności w elementach kontrolnych należy niezwłocznie zgłosić lokalnemu przedstawicielowi działu pomocy technicznej. Jeśli kontrola jakości nie spełnia wymogów, wyniki pacjenta są nieważne. Należy zidentyfikować i rozwiązać problem, a następnie wykonać ponowne barwienie próbek pacjenta.

INTERPRETACJA WYBARWIENIA / OCZEKIWANE WYNIKI

Odczynnik Light Green for PAS używany w połączeniu z zestawem PAS Staining Kit został przetestowany pod kątem barwienia kontrastowego tła w celu wspomagania uwiadczenia organizmów grzybiczych w tkance.

- Organizmy grzybicze: barwa czerwono-fioletowa (magenta)
- Jądra komórkowe: barwa niebieskozielona

- Tło: barwa jasnozielona

SZCZEGÓLNE OGRANICZENIA

Działanie testu zostało zwalidowane wyłącznie przy użyciu dodatnio naładowanych szkiełek mikroskopowych.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

SKUTECZNOŚĆ ANALITYCZNA

Przeprowadzono badania barwienia pod kątem jego czułości, swoistości i precyzji. Wyniki tych badań zamieszczono poniżej.

Czułość i swoistość

Oceniono czułość i swoistość analityczną barwienia tkanek prawidłowych i tkanek zmienionych chorobowo. Wszystkie oceniane przypadki tkanek (69/69) spełniały kryteria akceptowalności barwienia, jak przedstawiono w Tabeli 2 i Tabeli 3.

Tab. 2. Czułość/swoistość odczynnika Light Green for PAS wyznaczono, wykonując badania na próbkach następujących prawidłowych tkanek FFPE.

Tkanka	Liczba przypadków z akceptowalnym barwieniem/liczba przypadków badanych
Pluco	1/1
Skóra	4/4

Tab. 3. Czułość/swoistość odczynnika Light Green for PAS wyznaczono, wykonując badania na próbkach następujących zmienionych chorobowo tkanek FFPE.

Tkanka	Liczba przypadków z akceptowalnym barwieniem/liczba przypadków badanych
Candida (różne typy tkanek)	8/8
Aspergillus (różne typy tkanek)	43/43
Blastomyces (różne typy tkanek)	3/3
Mukormikoza (różne typy tkanek)	5/5
Kokcydiodomikoza (pluca)	2/2
Histoplazmoza (różne typy tkanek)	3/3

Precyzja

Precyzję odczynnika Light Green for PAS określono w wielu cyklach barwienia, dniach, aparatach oraz przy użyciu wielu partii odczynników. W badaniach wybarwiono wiele preparatów ciętych skrawków tkanek przygotowanych z 3 przypadków tkanek płuca zakażonych grzybami z rodzaju *Aspergillus* oraz 3 przypadków tkanek przełyku zakażonych grzybami z rodzaju *Candida*. Wszystkie kryteria akceptacji zostały całkowicie spełnione. Badania precyzji barwienia przy użyciu odczynnika Light Green for PAS przeprowadzono zgodnie z warunkami zawartymi w Tabeli 4.

Tab. 4. Badania precyzji barwienia preparatu przy użyciu odczynnika Light Green for PAS.

Testowane parametry	Liczbawarunków	Liczba przypadków z akceptowalnym barwieniem/liczba preparatów badanych
Między cyklami	3 cykle tego samego dnia	54/54
Między dniami	5 dni	90/90
Między aparatami	3 aparaty	54/54
W ramach cyklu	tego samego dnia, ten sam aparat	54/54
Między partiami	3 partie	54/54

Na podstawie wyników nie wykazano istotnych różnic w intensywności wybarwienia między preparatami.

ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW

1. Grubość tkanki może wpływać na jakość i intensywność barwienia. Jeśli tkanka jest nieodpowiednio wybarwiona, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.
2. Tkanka nekrotyczna lub po autolizie może wykazywać barwienie nieswoiste.
3. Jeśli dla kontroli dodatniej otrzymano wynik ujemny, tkanki mogły zostać niewłaściwie pobrane, utrwalone lub odparafinowane. Przestrzegać odpowiednich procedur pobierania, przechowywania i utrwala.
4. Jeśli dla kontroli dodatniej otrzymano wynik ujemny, upewnić się, czy preparat jest oznaczony odpowiednią etykietą z kodem kreskowym. Jeśli preparat jest oznaczony prawidłową etykietą, należy sprawdzić barwienie w innych kontrolach dodatnich wybarwionych podczas tego samego cyklu barwienia, aby określić czy zostały poprawnie wybarwione.
5. Nadmierne wybarwienie tła może być spowodowane niekompletnym usunięciem parafiny, przez co tkanka mogła nie zostać wybarwiona lub mogło dojść wystąpienia artefaktów podczas barwienia. Jeśli z preparatu nie usunięto całej parafiny, należy powtórzyć cykl barwienia z wybraną opcją przedłużonego odparafinowania, jeżeli jest ona dostępna.
6. Jeśli skrawki tkanek są wypłukiwane ze szkiełek, należy sprawdzić, czy szkiełka są naładowane dodatnio.
7. Pozostawienie preparatów we wnętrzu aparatu na dłuższy czas po ukończeniu cyklu barwienia może mieć wpływ na jakość i intensywność barwienia. Jeśli preparaty są nieodpowiednio wybarwione, należy je wyciągnąć z aparatu niezwłocznie po ukończeniu cyklu i przystąpić do procedury postępowania po obróbce w aparacie.
8. Aby uzyskać informacje o środkach zaradczych, należy zapoznać się z częścią dotyczącą instrukcji stosowania, przewodnikiem użytkownika aparatu lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.

BIBLIOGRAFIA

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.

UWAGA: W tym dokumencie jako separator dziesiętny do zaznaczenia granicy między częścią całkowitą a ułamkową cyfry dziesiętnej zawsze używana jest kropka. Nie jest używany separator tysięcy.

Symbole

Firma Ventana stosuje określone poniżej symbole i oznaczenia dodatkowo do symboli wymienionych w normie ISO 15223-1 (dotyczy Stanów Zjednoczonych: definicje stosowanych symboli można znaleźć pod adresem dialog.roche.com):



Globalny Numer Jednostki Handlowej



Unikalny identyfikator wyrobu



Wskazuje podmiot odpowiedzialny za import wyrobu medycznego do Unii Europejskiej

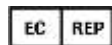
WŁASNOŚĆ INTELEKTUALNA

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE i logo VENTANA są znakami towarowymi firmy Roche. Wszystkie pozostałe znaki towarowe stanowią własność odpowiednich właścicieli. Uzupełnienia, skreślenia lub zmiany są wskazywane przez pasek zmian na marginesie. © 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

DANE KONTAKTOWE

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

www.ventanamedicalsystems.com



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

