

PAS Staining Kit

REF

860-014

05279291001

IVD

Σ 75

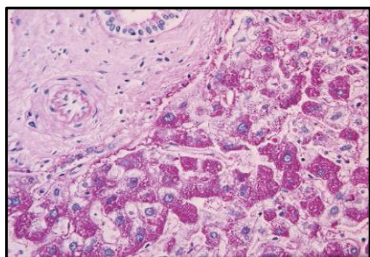


Figura 1. Tinción de tejido hepático con PAS Staining Kit.

USO PREVISTO

PAS Staining Kit está destinado a su uso en laboratorio como tinción histológica cualitativa para detectar la presencia de glucógeno, membrana basal y organismos fúngicos mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) teñido con un instrumento BenchMark Special Stains. La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo

cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este producto está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

PAS Staining Kit es una modificación del método descrito en su origen por McManus en 1946 para visualizar las mucinas, los glicógenos, la membrana basal y los organismos fúngicos a través de la combinación de la oxidación de los polisacáridos mediante ácido peryódico y la tinción con el reactivo de Schiff.¹

PAS es una tinción de carbohidratos versátil que se puede usar para detectar estructuras que contienen una proporción alta de macromoléculas de carbohidratos, incluidos los polisacáridos.¹ El polisacárido principal que se identifica mediante tinción histológica en secciones de tejido humano es el glucógeno.¹

La tinción PAS permite la visualización microscópica y la evaluación de los niveles de glucógeno en el tejido.² La alteración de las vías metabólicas que convierten la glucosa en glucógeno (y viceversa) puede provocar la acumulación de glucógeno.² Las características clínicas del exceso de glucógeno pueden variar en función del órgano/tejido en el que se produzca la acumulación.²

La tinción PAS también se usa en la exploración de las membranas basales, y normalmente se usa para examinar la membrana basal glomerular en biopsias renales con sospecha de enfermedad glomerular.^{3,4} La enfermedad glomerular se produce cuando existe una alteración en la barrera de filtración glomerular que puede permitir que los eritrocitos o las proteínas de plasma la atraviesen.⁵ Las características patológicas pueden variar, pero pueden incluir corrugación, colapso, engrosamiento y adelgazamiento de la membrana basal.⁴

La tinción PAS también se puede usar para detectar el glucógeno presente en las paredes celulares fúngicas, como ayuda en el diagnóstico de la micosis.⁶ El contenido de glucógeno de la pared celular fúngica es similar en muchos tipos de hongos; por tanto, la tinción PAS es un método fiable para confirmar o eliminar la posibilidad de micosis.^{1,6}

El PAS Staining Kit se utiliza para ayudar al anatomopatólogo en la evaluación de los niveles de glucógeno, y también en el diagnóstico de la enfermedad glomerular en tejido renal y de la infección provocada por hongos.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

PAS Staining Kit usa el reactivo Periodic Acid para oxidar glicoles y aldehídos.¹ El reactivo de Schiff reacciona con los aldehídos para formar un compuesto de dialdehído incoloro que se transforma en la tinción magenta de los componentes celulares que contienen glicol. Se aplica una modificación de la hematoxilina de Mayer para obtener una tinción nuclear de azul a morada.

El kit se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark Special Stains. Los reactivos se aplican en el tejido en portaobjetos para microscopio y se mezclan con toda la muestra.

MATERIAL SUMINISTRADO

Los viales de reactivo se suministran en transportadores con etiquetas de código de barras para que puedan introducirse en la bandeja de reactivos del instrumento. Cada kit contiene reactivo suficiente para 75 pruebas:

Un vial de 22 mL de Periodic Acid contiene aproximadamente ácido peryódico al 1 %.

Tres viales de 22 mL de Schiff's Reagent contienen aproximadamente un 4 % de bisulfito de sodio, aproximadamente un 2 % de ácido clorhídrico diluido y aproximadamente un 1 % de cloruro de pararosanilina.

Un vial de 22 mL de Neutralizer contiene aproximadamente bisulfato de sodio al 1 %.

Un vial de 22 mL de Hematoxylin Counterstain contiene hematoxilina de Mayer modificada.

Seis inserciones de viales con cañas de aspiración.

Reconstitución, mezcla, dilución, titulación

No son necesarias la reconstitución, la mezcla, la dilución ni la titulación de los reactivos del kit. Una mayor dilución de cualquiera de los reactivos puede dar lugar a una tinción no satisfactoria.

Los reactivos del kit se han diluido de forma óptima para su uso con instrumentos BenchMark Special Stains.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Puede que no todos los productos que aparecen en la hoja de datos estén disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Instrumento BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (n.º de cat. 860-036/06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (n.º de cat. 860-034/06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (n.º de cat. 860-041/08309817001)
7. Equipo de laboratorio de uso general

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

PAS Staining Kit se debe conservar a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Los componentes del kit que se encuentran refrigerados deben estar a temperatura ambiente antes de utilizarlos.

Si se almacena correctamente, los reactivos sin abrir se mantendrán estables hasta la fecha indicada en la etiqueta. No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad que se indica en el kit.

Nota: Después de abierto, Schiff's Reagent se conserva estable durante un mes. Cuando se abra por primera vez, etiquete el vial Schiff con la fecha correspondiente. El kit contiene dos botellas adicionales de Schiff's Reagent para permitir el uso completo del kit. Utilice los viales de Schiff's Reagent de uno en uno.

Se sabe que Schiff's Reagent contiene un precipitado en forma de aguja. A los niveles esperados, este precipitado no debería afectar el rendimiento del ensayo. Los controles deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche si el material de control positivo presenta una reducción de la tinción, dado que podría indicar la inestabilidad del reactivo.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual son necesarios para el uso de este producto y de los instrumentos BenchMark Special Stains. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.⁷

Lleve a cabo la extracción de las muestras y su conservación conforme a las instrucciones que recoge: «Histotechnology: A Self Instructional Text».⁷ Corte las secciones con el grosor adecuado, de aproximadamente 4 µm, y colóquelas en portaobjetos de vidrio cargados positivamente.

1. Seque los portaobjetos.⁷
2. Imprima las etiquetas con código de barras correspondientes.
3. Coloque las etiquetas de código de barras en el extremo congelado de los portaobjetos antes de cargarlos en el instrumento (consulte el Manual del usuario

del instrumento para obtener información sobre la correcta aplicación de las etiquetas).

Consulte la sección Instrucciones de uso para obtener información sobre el protocolo recomendado para el instrumento BenchMark Special Stains.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
4. Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
5. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{8,9}
6. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
7. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
8. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark Special Stains y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en navifyportal.roche.com.
9. Consultar a las autoridades locales y/o estatales sobre el método de eliminación recomendado.
10. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
11. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H290	Puede ser corrosivo para los metales.
	H314	Puede provocar quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.
	H350	Puede provocar cáncer.
	H373	Puede provocar daños en determinados órganos debido a la exposición prolongada o recurrente.
	P201	Antes de utilizarlo, obtenga cualquier tipo de instrucción especial.
	P260	No inhale la niebla o los vapores.
	P280	Lleve guantes y prendas de protección, así como protección auditiva y para el rostro.
	P303 + P361 + P353	SI ENTRA EN CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quítese de inmediato todas las prendas contaminadas. Enjuague la piel con agua.
	P304 + P340 + P310	SI SE INHALA: Lleve a la persona afectada a respirar aire fresco y procure que respire cómodamente. Consulte inmediatamente a un médico o a un centro de toxicología.
	P305 + P351 + P338 + P310	SI ENTRA EN CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague los ojos con agua cuidadosamente durante unos minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Consulte inmediatamente a un médico o a un centro de toxicología.

Riesgo	Código	Declaración
	P308 + P313	Si se sufre una exposición importante: Consultar a un médico.

EUH208: Contiene yodato sódico. Puede provocar una reacción alérgica.

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación del vial de reactivo

Antes de utilizarlo por primera vez, es necesario colocar una inserción de vial y la caña de aspiración en el vial del reactivo.

Quite el tapón con el que se suministra el vial y coloque en el vial la inserción y la caña. La inserción y la caña de aspiración deben permanecer en el vial una vez que esté abierto.

Procedimiento de tinción

1. Cargue los reactivos y los portaobjetos en el instrumento.
2. Coloque el tapón blando en la ranura del soporte de reactivo cuando se esté utilizando el reactivo.
3. Lleve a cabo la sesión de tinción según los protocolos recomendados en la Tabla 2 y las instrucciones que recoge el Manual del usuario.
4. Cuando haya finalizado la sesión, retire los portaobjetos del instrumento.
5. Cubra el vial de reactivo con el tapón blando cuando no se utilice.
6. Una vez usados, almacene los reactivos tal y como se recomienda en las condiciones de almacenamiento recomendadas.

Protocolo recomendado

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden visualizar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario del instrumento.

Los siguientes procedimientos son flexibles para adaptarse a las preferencias del usuario. Este producto se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark Special Stains, pero es necesario que el usuario valide los resultados que obtenga con ellos.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para PAS Staining Kit en un instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimiento de tinción	S PAS
Paso del protocolo*	Método
Desparafinado	Seleccionar para automatizar la eliminación de la parafina.
Horneado (opcional)	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Se recomienda una temperatura de 75 °C durante 4 minutos.
Optimize PAS	Seleccione para habilitar ajustes de PAS Schiff's y Hematoxylin.
Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)	Los valores predeterminados son 45 °C durante 20 minutos. Seleccione esta opción para permitir el ajuste de la intensidad de la tinción.** Seleccione una temperatura de entre 37 y 60 °C: • 37 °C, intensidad de la tinción Schiff más clara • 60 °C, intensidad de la tinción Schiff más oscura Seleccione un tiempo de incubación de entre 12 y 20 minutos: • 12 minutos, intensidad de la tinción Schiff más clara • 20 minutos, intensidad de la tinción Schiff más oscura.
PAS Hematoxylin	El tiempo predeterminado es de 8 minutos.

Procedimiento de tinción	S PAS
Paso del protocolo*	Método
	Seleccione esta opción para permitir el ajuste del tiempo de incubación:** 4 minutos, tinción nuclear más clara 12 minutos, tinción nuclear más oscura

* Para ajustar las preferencias de la tinción, aumente los parámetros de temperatura de la tinción y de tiempo de incubación de uno en uno.

** Para ajustar las preferencias de la tinción, aumente los parámetros de temperatura de la tinción y de tiempo de incubación de uno en uno.

Procesamiento post-instrumento recomendado

1. Deshidrate los portaobjetos en dos cambios de etanol al 95 % para eliminar los restos de solución y, a continuación, en otros tres cambios de etanol al 100 %.
2. Aclare los portaobjetos en tres cambios de xileno al 100 %.
3. Aplique un cubreobjetos con medio de montaje permanente.
4. Compatible con el protocolo de montador mediante el sistema VENTANA HE 600. Si desea obtener instrucciones más detalladas al respecto, consulte el Manual del usuario del sistema VENTANA HE 600.

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Como ejemplo de material de control positivo se encuentra el tejido humano FFPE conocido por contener una gran cantidad de glicógeno, como el músculo esquelético o el hígado. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía, preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba. Estos tejidos deben utilizarse para hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el proceso, desde la preparación del tejido hasta la tinción.

El uso de una sección de tejido fijada o procesada de forma diferente a la muestra de la prueba actúa como control en todos los pasos de reactivo y del método, salvo en los de fijación y procesamiento de tejidos. Los componentes celulares de otros elementos del tejido pueden servir como control negativo.

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo.

El tejido de control se debe analizar en cada una de las sesiones.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para hacer un seguimiento del comportamiento correcto de los reactivos de la prueba y de los tejidos procesados, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente.

Si los componentes de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos. Si los componentes de tejido negativos muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras del paciente también se deben considerar no válidos.

Las discrepancias no explicadas en los resultados de los controles deberían comunicarse al representante local de asistencia técnica de Roche de forma inmediata. Si los resultados de los controles de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no serán válidos. Es necesario identificar la causa y corregir el problema, así como repetir el análisis de las muestras del paciente.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

Se ha analizado PAS Staining Kit para demostrar la presencia de glicógeno, hongos y membranas basales.

- Glicógeno: magenta
- Mucinas: magenta
- Membrana basal: magenta
- Hongos: magenta
- Núcleos: de azul a morado
- Fondo: rosa

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

Únicamente se han utilizado y validado en este ensayo los portaobjetos para microscopio con carga positiva.

Se sabe que Schiff's Reagent contiene un precipitado en forma de aguja. A los niveles esperados, este precipitado no debería afectar el rendimiento del ensayo.

Se ha observado un precipitado en forma de cubo de color rosa a rojo en los portaobjetos teñidos con PAS Staining Kit. A los niveles esperados, este precipitado no debería interferir con la interpretación del ensayo.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

Sensibilidad y especificidad

Se evaluaron la sensibilidad y especificidad analíticas de casos de tejidos normales y afectados por enfermedad. En todos los casos de tejido evaluados (61/61) se obtuvo un resultado apto de tinción aceptable, tal y como se muestra en la Tabla 3 y en la Tabla 4.

Tabla 3. La sensibilidad y especificidad de PAS Staining Kit se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE normales.

Tejido	N.º de casos aptos/analizados
Riñón	5 / 5
Hígado	5 / 5
Intestino delgado	5 / 5
Músculo esquelético	10 / 10

Tabla 4. La sensibilidad y especificidad de PAS Staining Kit se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE patológicos.

Tejido	N.º de casos aptos/analizados
Candidiasis (varios tipos de tejido)	8 / 8
Aspergilo (varios tipos de tejido)	10 / 10
Glomeruloesclerosis focal y segmentaria (riñón)	4 / 4
Enfermedad glomerular (riñón)	5 / 5
Glomerulonefritis membranosa (riñón)	1 / 1
Glomerulonefritis membranoproliferativa (riñón)	2 / 2
Nefropatía por lupus (riñón)	4 / 4
Glomeruloesclerosis diabética (riñón)	2 / 2

Precisión

La precisión de PAS Staining Kit se determinó en diferentes sesiones, días, instrumentos y lotes de reactivo con varios portaobjetos de cortes de tres casos de tejido de hígado normal y tres casos de tejido de riñón normal. Todos los criterios de aceptación se cumplieron al completo. Los estudios de precisión se llevaron a cabo con PAS Staining Kit según la información que se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Estudios de precisión de portaobjetos con PAS Staining Kit.

Parámetros analizados	N.º de condiciones	N.º de portaobjetos aptos/ N.º de analizados
Entre sesiones	Tres sesiones en un mismo día	54 / 54
Entre días	5 días	88 / 90

Parámetros analizados	N.º de condiciones	N.º de portaobjetos aptos/ N.º de analizados
Entre instrumentos	Tres instrumentos	52 / 54
En la misma sesión	mismo día y mismo instrumento	53 / 54
Entre lotes	Tres lotes	54 / 54

RENDIMIENTO CLÍNICO

Las características de sensibilidad y especificidad relevantes para el uso previsto de este dispositivo se enumeran en la sección de rendimiento de análisis. De forma adicional, se evaluaron los datos publicados pertinentes para el dispositivo mediante una revisión sistemática de la documentación y también respaldan el uso del dispositivo de acuerdo con su uso previsto.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

- El grosor del corte puede afectar la calidad y la intensidad de la tinción. Si la tinción no es adecuada, póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche para obtener ayuda.
- El tejido necrótico o autolizado puede presentar tinción no específica.
- Si el control positivo es negativo, es posible que los tejidos se hayan recogido, fijado o desparafinado de forma incorrecta. Siga el procedimiento apropiado para llevar a cabo la recogida, el almacenamiento y la fijación.
- Si el control positivo es negativo, asegúrese de que el portaobjetos lleva la etiqueta de código de barras correcta. Si el etiquetado del portaobjetos es correcto, compruebe el resto de los controles positivos de la misma sesión para saber si se han teñido los controles adecuadamente.
- Si se presenta una tinción de fondo excesiva: una eliminación incompleta de la parafina puede provocar la aparición de artefactos en la tinción o la ausencia de esta. Si no se ha eliminado toda la parafina del portaobjetos, la sesión de tinción debería repetirse con una opción de desparafinado más prolongada, si fuera posible.
- Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, compruebe que los portaobjetos tienen carga positiva.
- Una conservación prolongada de los portaobjetos en el instrumento una vez que haya finalizado la sesión puede influir en la calidad y la intensidad de la tinción. Si la tinción no es adecuada, retire los portaobjetos de inmediato al finalizar la sesión y continúe con el procesamiento post-instrumento.
- Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Instrucciones de uso, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.

REFERENCIAS

- 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;643-653.
- 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.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte elabdoc.roche.com/symbols para obtener más información):



Número de artículo de Global Trade

Rx only

Para EE. UU.: Precaución: Las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos.

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev	Actualizaciones
K	Actualización de la sección Advertencias y precauciones y actualización a la plantilla actual.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK y VENTANA HE son marcas comerciales de Roche. Todos los demás nombres de productos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

www.roche.com



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

