

GMS II Staining Kit

REF

860-028

05412749001

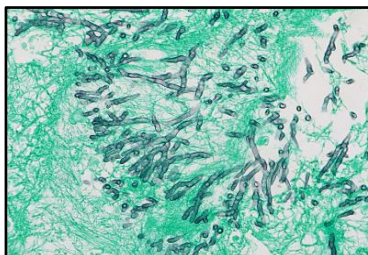
IVD
 75


Figura 1. Tinción con GMS II Staining Kit de Aspergillus.

USO PREVISTO

GMS II Staining Kit está destinado a su uso en laboratorio como tinción histológica cualitativa para detectar la presencia de polisacáridos en las paredes celulares de los 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

GMS II Staining Kit es una modificación del procedimiento Gomori's Methenamine Silver que Robert Grocott modificó en 1955 y que habitualmente se denomina tinción Grocott Methenamine Silver (GMS).¹

La tinción GMS pertenece a la categoría de la tinción de plata de oxidación-reducción, en la que tiene lugar la oxidación de los carbohidratos y, a continuación, la reducción de la plata.² Los hongos se tiñen de forma específica con tinción de plata de oxidación-reducción debido a sus paredes celulares rígidas con gran contenido en polisacáridos.^{2,3}

La tinción GMS, mediante un oxidante fuerte, oxida los polisacáridos que se encuentran en las paredes celulares de los hongos, dando lugar a la liberación de aldehídos.^{1,4} Estos aldehídos reducen el nitrato de plata para que se forme un precipitado de plata metálico y dan lugar a una tinción en negro de las paredes celulares.³

GMS II Staining Kit sirve como ayuda para el anatomopatólogo para diagnosticar las infecciones por organismos fúngicos.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

Los polisacáridos de la pared celular se oxidan mediante el reactivo GMS II Oxidizer hasta formar grupos de aldehídos. El ácido crómico inhibe la tinción más débil de fondo de las fibras de colágeno y de las membranas basales. El reactivo GMS II Neutralizer elimina el exceso de ácido crómico. El reactivo GMS II Silver A aporta los iones de plata. El reactivo GMS II Silver B proporciona las condiciones alcalinas, que reducen los iones de plata a plata metálica. El reactivo GMS II Toner contiene cloruro de oro para que se forme un complejo de oro más estable y elimina los tonos amarillos del tejido. El reactivo GMS II Fixer contiene tiosulfato, que detiene la reacción y elimina de la sección cualquier resto de plata que no se haya reducido. GMS II Light Green Counterstain se aplica a fin de proporcionar un fondo en contraste.

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 27 mL de GMS II Oxidizer contiene aproximadamente trióxido de cromo al 5 %.

Un vial de 22 mL de GMS II Neutralizer contiene aproximadamente metabisulfito de sodio al 1 %.

Un vial de 22 mL de GMS II Silver A contiene aproximadamente nitrato de plata al 1 %. Dos viales de 22 mL de GMS II Silver B contienen, aproximadamente, metenamina al 15 % y borato de sodio al 2 %.

Un vial de 22 mL de GMS II Toner contiene aproximadamente cloruro de oro al 1 %.

Un vial de 22 mL de GMS II Fixer contiene aproximadamente tiosulfato de sodio al 3 %.

Un vial de 22 mL de GMS II Light Green Counterstain contiene, aproximadamente, Light Green SF amarillento al 1 % y ácido acético al 1.5 %.

Ocho inserciones de viales con cañas de aspiración.

Reconstitución, mezcla, dilución y 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

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están 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 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

GMS II 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: El reactivo GMS II Silver B sellado y sin abrir se conserva estable hasta la fecha de caducidad que aparece impresa en la etiqueta del vial. Si la tinción se oscurece hasta un límite inaceptable, aplique el segundo vial sellado y sin abrir de GMS II Silver B. El kit contiene un vial adicional de GMS II Silver B para que se pueda utilizar el kit completo. Utilice los viales de GMS II Silver B de uno en uno.

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 un aumento o 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 %.⁵

Lleve a cabo la recogida y la conservación de la muestra tal y como se indica en el documento M29-T2 del CLSI.⁶

Corte las secciones con el grosor adecuado, de aproximadamente 4 µm, y colóquelas en portaobjetos de vidrio cargados positivamente.

1. Seque los portaobjetos.⁵
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

- Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
- Solo para uso profesional.
- PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
- Para los clientes que se encuentran en el Espacio Económico Europeo: Contiene trióxido de cromo (sustancia extremadamente preocupante, SEP). Para su uso como parte de un método IVD según los art. 60.2 y 62.6 de REACH.
- No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
- 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.
- Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{7,8}
- 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.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
- 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 dialog.roche.com.
- Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
- Este producto contiene cloruro, hidrocloreto y trihidrato de oro; Es posible que provoque reacciones alérgicas.
- 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.
- 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.
	H302 + H312 + H332	Tóxico si se ingiere, si entra en contacto con la piel o si se inhala.
	H314	Puede provocar quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H334	Puede provocar síntomas de alergia o asma, así como dificultad respiratoria cuando se inhala.
	H335	Puede provocar irritación de las vías respiratorias.
	H340	Puede provocar defectos genéticos.
	H350	Puede provocar cáncer.
	H360FD	Puede perjudicar la fertilidad. Puede ocasionar daños en el feto
	H373	Puede provocar daños en determinados órganos debido a la exposición prolongada o recurrente.
	H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.

Riesgo	Código	Declaración
	P201	Antes de utilizarlo, obtenga cualquier tipo de instrucción especial.
	P260	No inhale la niebla o los vapores.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	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. Quítese las lentillas, si las lleva y puede hacerlo con facilidad. Siga aclarando la zona. Consulte inmediatamente a un médico o a un centro de toxicología.
	P308 + P313	Si se sufre una exposición importante: Consultar a un médico.
	P342 + P311	Si se detectan síntomas respiratorios: Consulte a un médico o a un centro de toxicología.
	P391	Recoja los vertidos.

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

- Cargue los reactivos y los portaobjetos en el instrumento.
- Coloque el tapón blando en la ranura del soporte de reactivo cuando se esté utilizando el reactivo.
- Lleve a cabo la sesión de tinción según el protocolo recomendado en la Tabla 2 y las instrucciones que recoge el Manual del usuario.
- Cuando haya finalizado la sesión, retire los portaobjetos del instrumento.
- Cubra el vial de reactivo con el tapón blando cuando no se utilice.
- 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 mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos.

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 GMS II Staining Kit en un instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimiento de tinción	S GMS II
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 8 minutos.
Temperatura	La temperatura recomendada es de 55 °C. Seleccione una temperatura de entre 50 y 60 °C.* 50 °C, tinción de plata más clara 60 °C, tinción de plata más oscura
GMS II Silver B	El tiempo de incubación recomendado es de 12 minutos. Seleccione un tiempo de incubación de entre 4 y 16 minutos.* 4 minutos, tinción de plata más clara 16 minutos, tinción de plata más oscura
Optimización de la intensidad de la contratinción (Light Green)	El tiempo predeterminado es de 4 minutos. Seleccione para permitir el ajuste del tiempo de incubación.* 4 minutos, contratinción más clara 16 minutos, contratinción 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.

Procesamiento post-instrumento recomendado

1. Enjuague 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. Deshidrate los portaobjetos en tres cambios de xileno al 100 %.
 3. Aplique un cubreobjetos con medio de montaje permanente.
- 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 figura el tejido humano FFPE positivo a infección fúngica que puede encontrarse en el pulmón. 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 se utilizan para hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el análisis, 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

GMS II Staining Kit se ha analizado para detectar los organismos fúngicos.

- Organismos fúngicos: de gris a negro
- Fondo: verde

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

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

La tinción de plata se puede oscurecer con el tiempo tras el uso inicial del reactivo GMS II Silver B. A los niveles previstos, esto no debería interferir en la interpretación de la tinción.

Se ha observado una decoloración marrón de los portaobjetos de vidrio en los que se utiliza GMS II Staining Kit. Esta decoloración, a niveles previstos, no debe interferir en la interpretación de la tinción.

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. La mayoría de los tipos de tejido contaminados con hongos que se analizaron provenían del pulmón. Los tejidos normales de pulmón (sin infección por hongos) sirvieron para demostrar la presencia de los elementos con tinción negativa. En todos los casos de tejido evaluados (62/62) se obtuvo un resultado apto de tinción aceptable, tal y como se muestra en la Tabla 3

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

Tejido	N.º de casos aptos/analizados
Pulmón (normal)	6 / 6
Aspergillus (pulmón, cavidad nasal, seno maxilar)	12 / 12
Cándida (esófago, estómago)	8 / 8
Paracoccidioides (pulmón, hueso)	3 / 3
Mucor (pulmón, cavidad nasal, tejido blando, riñón)	4 / 4
Coccidioides (pulmón)	4 / 4
Criptococo (pulmón)	15 / 15
Pneumocystis (pulmón)	10 / 10

Precisión

La precisión de GMS II Staining Kit se determinó entre varias sesiones, días, instrumentos y lotes de reactivo con diferentes portaobjetos con cortes de distintos tipos de tejido con infección por hongos (2 aspergillus [cavidad nasal/seno maxilar], 2 criptococos [pulmón] y 2 pneumocystis [pulmón]). Se cumplieron todos los criterios de aceptación. Los estudios de precisión se llevaron a cabo según la información que aparece en la Tabla 4.

Tabla 4. Estudios de precisión de portaobjetos con GMS II 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	90 / 90
Entre instrumentos	Tres instrumentos	54 / 54
En la misma sesión	mismo día y mismo instrumento	54 / 54
Entre lotes	Tres lotes	54 / 54

Los resultados demostraron que no existía una diferencia significativa en la intensidad de la tinción entre los portaobjetos.

RENDIMIENTO CLÍNICO

Los datos de rendimiento clínico pertinentes para el uso previsto de GMS II Staining Kit se evaluaron mediante revisión sistemática de la documentación oportuna. Los datos obtenidos respaldan la utilización 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.
- Si la tinción se oscurece hasta un límite inaceptable, aplique el segundo vial sellado y sin abrir de GMS II Silver B. El kit contiene un vial adicional de GMS II Silver B para que se pueda utilizar el kit completo. Utilice los viales de GMS II Silver B de uno en uno.
- 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

- Grocott RG. A Stain for Fungi in Tissue Sections and Smears. American Journal of Clinical Pathology. 1955;25(8_ts):975-979.
- Grizzle WE. Theory and Practice of Silver Staining in Histopathology. Journal of Histotechnology. 2013;19(3):183-195.
- Shalin SC, Ferringer T, Cassarino DS. PAS and GMS Utility in Dermatopathology: Review of the Current Medical Literature. J Cutan Pathol. 2020;47(11):1096-1102.
- Swisher BL, Chandler FW. Grocott-Gomori Methenamine Silver Method for Detecting Fungi: Practical Considerations. Laboratory Medicine. 1982;13(9):568-570.

- 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: 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 en dialog.roche.com la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
K	Se han actualizado las secciones de Preparación de Material suministrado, Advertencias y precauciones y Propiedad Intelectual.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

