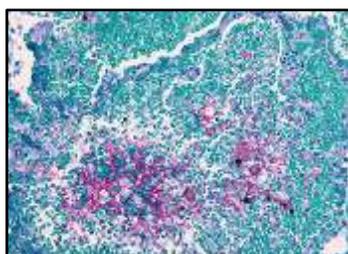


## Light Green for PAS

**REF** 860-010  
05279267001

**IVD**  75



**Figura 1. Tinción de organismos fúngicos en tejido de pulmón con Light Green for PAS.**

diagnóstico in vitro (IVD).

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Light Green for PAS es una contratinción en una sola botella que se utiliza junto con PAS Staining Kit. 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.<sup>1</sup>

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

PAS Staining Kit oxida los glicoles y los aldehídos mediante el reactivo Periodic Acid. El reactivo de Schiff forma un compuesto dialdehído sin color que se transforma en una tinción magenta de los componentes celulares que contienen glicol.<sup>2</sup> El reactivo Light Green for PAS se emplea en lugar de Hematoxylin o junto a ella y se suministra con PAS Staining Kit. Light Green for PAS tiñe el fondo de verde claro, mientras que PAS Staining Kit tiñe los elementos fúngicos del tejido de color magenta.

El kit se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark Special Stains. El reactivo se aplica en el tejido en portaobjetos para microscopio y se mezcla con toda la muestra.

### MATERIAL SUMINISTRADO

El vial de reactivo se suministra en transportadores con etiqueta de código de barras para que pueda introducirse en la bandeja de reactivos del instrumento. Cada kit contiene reactivo suficiente para 75 pruebas:

Un vial de 15 mL de Light Green for PAS contiene, aproximadamente, SF verde claro amarillento al 1 % en una solución de ácido acético al 1 %.

Una inserción de vial con caña de aspiración.

### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

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

El reactivo del kit se ha diluido de forma óptima para su uso con el instrumento 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. PAS Staining Kit (n.º cat. 860-014 / 05279291001)
8. Equipo de laboratorio de uso general

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Light Green for PAS debe conservarse a una temperatura de entre 15 y 30 °C.

Si se almacenan correctamente, los reactivos se mantendrán estables hasta la fecha indicada en la etiqueta, ya se encuentren abiertos o cerrados. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

No existen indicios absolutamente precisos de la inestabilidad de estos reactivos, por tanto, es necesario analizar simultáneamente los controles con las 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 fijados con formol y embebidos en parafina (FFPE) que se procesan de forma habitual son necesarios para el uso de este ensayo y de BenchMark Special Stains. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.<sup>2</sup>

Lleve a cabo la recogida de muestras y su conservación según se recoge en el documento M29-T2 de CLSI.<sup>3</sup> Corte las secciones con el grosor adecuado, aproximadamente de 4 µm, y colóquelas en portaobjetos de vidrio con carga positiva.

1. Seque los portaobjetos.<sup>2</sup>
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. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. 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.
6. 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.<sup>4,5</sup>
7. 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.
8. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
9. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
10. 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](http://dialog.roche.com).
11. 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.
12. 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.

## 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 el protocolo recomendado en la Tabla 1 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 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 1.** Protocolo de tinción recomendado para Light Green for PAS en un instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimiento de tinción	S PAS
Paso del protocolo	Método
<b>Desparafinado</b>	Seleccionar para automatizar la eliminación de la parafina.
<b>Horneado (opcional)</b>	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Se recomienda una temperatura de 75 °C durante 4 minutos.
<b>Light Green</b>	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Seleccione esta opción para permitir Diastase y las opciones de Light Green.
<b>Diastase for PAS Light Green* (opcional)</b>	No seleccionado. El usuario deberá validar esta opción.
<b>Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)</b>	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 de Schiff más clara 60 °C, intensidad de la tinción de Schiff más oscura Seleccione un tiempo de incubación de entre 12 y 20 minutos: 12 minutos, intensidad de la tinción de Schiff más clara 20 minutos, intensidad de la tinción de Schiff más oscura

Procedimiento de tinción	S PAS
Paso del protocolo	Método
<b>Hematoxylin for Light Green (opcional)</b>	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Seleccione esta opción para permitir la aplicación de la tinción nuclear de Hematoxylin (recomendado).

\* Están disponibles otras opciones de procedimiento adicionales para aquellos productos que se pueden emplear junto con PAS Staining Kit y Light Green for PAS.

\*\* 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 se encuentra el tejido humano FFPE conocido por ser positivo en organismos fúngicos. 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

Light Green for PAS, cuando se utiliza junto con PAS Staining Kit, se analiza para obtener un fondo en contraste que ayude a demostrar la presencia de organismos fúngicos.

- Organismos fúngicos: magenta
- Núcleos: azul-verde
- Fondo: verde claro

### LIMITACIONES ESPECÍFICAS

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

## 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 (69/69) se obtuvo un resultado apto de tinción aceptable, tal y como se muestra en las Tablas 2 y 3.

**Tabla 2.** La sensibilidad y especificidad de Light Green for PAS se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE normales.

Tejido	N.º de aptos/analizados
Pulmón	1/1
Piel	4/4

**Tabla 3.** La sensibilidad y especificidad de Light Green for PAS se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE afectados por enfermedad.

Tejido	N.º de aptos/analizados
Candidiasis (varios tipos de tejido)	8/8
Aspergilo (varios tipos de tejido)	43/43
Blastomicosis (varios tipos de tejido)	3/3
Mucormicosis (varios tipos de tejido)	5/5
Coccidioidomicosis (pulmón)	2/2
Histoplasmosis (varios tipos de tejido)	3/3

#### Precisión

La precisión de Light Green for PAS se determinó en diferentes sesiones, días, instrumentos y lotes de reactivo con varios portaobjetos de cortes de tres casos de tejido de pulmón afectado por aspergilo y tres casos de tejido esofágico afectado por candidiasis. Se cumplieron todos los criterios de aceptación. Los estudios de precisión se llevaron a cabo con Light Green for PAS según la información que se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Estudios de precisión de portaobjetos con Light Green for PAS.

Parámetros analizados	N.º de condiciones	N.º de 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.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. 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.
2. El tejido necrótico o autolizado puede presentar tinción no específica.

3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, compruebe que los portaobjetos tienen carga positiva.
7. Una conservación prolongada de los portaobjetos cargados en el instrumento una vez que ha finalizado la sesión puede afectar a 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.
8. 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

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.

**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 [dialoq.roche.com](http://dialoq.roche.com) la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el dispositivo médico a la Unión Europea

## 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.

Las incorporaciones, eliminaciones y modificaciones se indican en el margen mediante una barra de cambios.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

## INFORMACIÓN DE CONTACTO

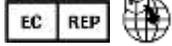


Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755  
USA

+1 520 887 2155

+1 800 227 2155 (USA)

[www.roche.com](http://www.roche.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany

+800 5505 6606

