

PAS Staining Kit

REF

860-014

05279291001

IVD

Σ 75

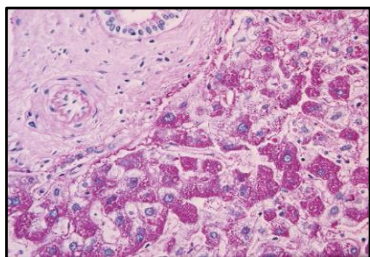


Fig. 1. Färgning av levervävnad med PAS Staining Kit.

AVSEDD ANVÄNDNING

PAS Staining Kit är avsett att användas som en kvalitativ histologisk färgning i laboratorier för att visa förekomst av glykogen, källamembran och svamporganismer med ljusmikroskopi i snitt av formalinfixerad, paraffinbäddad (FFPE) vävnad som färgats på ett BenchMark Special Stains-instrument.

Denna produkt bör tolkas av en kvalificerad patolog tillsammans med en

histologisk undersökning, relevant klinisk information och lämpliga kontroller.

Denna produkt är avsedd för användning vid in vitro-diagnostik (IVD).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

PAS Staining Kit är en modifiering av en teknik som ursprungligen beskrevs av McManus 1946 för att visualisera muciner, glykogen, källamembran och svamporganismer genom kombinationen av oxidation av polysackarider genom periodisk syra och färgning med Schiff-reagens.¹

PAS är en mångsidig kolhydratfärgning som kan användas för att upptäcka strukturer som innehåller en hög halt av kolhydratmakromolekyler som inkluderar polysackarider.¹ Den huvudsakliga polysackariden som indetifieras via histologisk färgning i mänskliga vävnadssnitt är glykogen.¹

PAS-färgning möjliggör mikroskopisk visualisering och bedömning av glykogennivåer i vävnad.² Störning i metaboliska vägar som konverterar glukos till glykogen och vice versa kan leda till ackumulering av glykogen.² De kliniska egenskaperna för överskott av glykogen kan variera beroende på organet/vävnaden där uppbyggnaden uppstår.² PAS-färgningen används också i när man undersöker basalmembran och används vanligtvis för att inspektera det glomerulära basalmembranet i njurbiopsier som misstänks ha glomerulär sjukdom.^{3,4} Glomerulär sjukdom uppstår när den glomerulära filtreringsbarriären störs, vilket leder till att röda blodceller eller plasmaproteiner kan passera barriären.⁵ Patologiska egenskaper kan variera men kan inkludera korrugering, kollaps, förtjockning och förtunning av basalmembranet.⁴

PAS-färgningen kan också användas för att upptäcka glykogen som finns i svampcellväggar som för att underlätta diagnostisering av svampinfektion.⁶ Innehållet av glykogen i svampcellväggen är liknande för många svampar; därför är PAS-färgning en pålitlig metod för att bekräfta eller eliminera möjligheten av svampinfektion.^{1,6}

PAS Staining Kit kan fungera som ett hjälpmedel för patologer i bedömningen av nivåer av glykogen och som ett hjälpmedel vid diagnos av glomerulär sjukdom i njurvävnad och infektion av svamporganismer.

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

PAS Staining Kit använder Periodic Acid-reagens för att oxidera glykoler till aldehyder.¹ Schiff's-reagenset reagerar med aldehyder och bildar en färglös dialdehydförening som omvandlas till magentafärgning av glykol innehållande cellulära komponenter. En modifiering av Mayer's hematoxylin appliceras för att ge blå till lila nuklerär färgning.

Detta kit är optimerat för användning på BenchMark Special Stains-instrumentet. Reagenserna appliceras på vävnad på objektglas för mikroskop och blandas över hela provet.

MEDFÖLJANDE MATERIAL

Reagensflaskorna levereras i streckodsmärkta bärare som sätts in i reagensbrickan på instrumentet. Varje kit innehåller tillräckligt med reagens för 75 test:

En 22 mL flaska med Periodic Acid innehåller ca 1 % periodsyra.

Tre 22 mL flaskor med Schiff's Reagent innehåller ca 4 % natriumbisulfid, ca 2 % utspädd saltsyra och ca 1 % pararosanilinklorid.

En 22 mL flaska med Neutralizer innehåller ca 1 % natriumbisulfid.

En 22 mL flaska med Hematoxylin Counterstain innehåller modifierat Mayer's hematoxylin.

Sex flaskinsatser med aspireringsrör.

Rekonstituering, blandning, spädning, titrering

Ingen rekonstituering, blandning, spädning eller titrering av kitreagenser behövs. Ytterligare spädning av något av reagenserna kan leda till otillfredsställande färgning.

Reagenserna i detta kit har späts ut optimalt för användning på BenchMark Special Stains-instrument.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

Eventuellt är inte alla produkter i metodbladet tillgängliga i alla länder. Rådfråga din lokala supportrepresentant.

Följande reagenser och material kan behövas vid färgning men medföljer ej:

1. Rekommenderad kontrollvävnad
2. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
3. BenchMark Special Stains-instrument
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (kat. nr. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (kat. nr. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (kat. nr. 860-041 / 08309817001)
7. Laboratorieutrustning för allmänt bruk

FÖRVARING OCH STABILITET

PAS Staining Kit ska förvaras vid 2 till 8 °C. Låt de kitkomponenter som förvaras i kylskåp uppnå rumstemperatur före användning.

Vid korrekt förvaring är öppnade reagenser stabila fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte reagens efter det utgångsdatum som anges på kitet.

Anteckning: Schiff's Reagent är stabil i en månad efter öppnande. Märk Schiff-flaskan med datumet då den öppnades första gången. Kitet innehåller två extra flaskor med Schiff's Reagent för att möjliggöra fullständig användning av kitet. Använd endast en flaska med Schiff's Reagent åt gången.

Schiff's Reagent är känt för att innehålla nällliknande utfällning. Vid förväntade nivåer bör denna utfällning inte påverka analysens prestanda. Kontroller bör köras samtidigt med okända prover. Kontakta din lokala supportrepresentant om positivt kontrollmaterial visar på minskad färgning eftersom det kan indikera reagensinstabilitet.

PROVBEREDNING

Rutinmässigt bearbetade FFPE-vävnader krävs för användning med denna produkt och BenchMark Special Stains-instrument. Rekommenderat vävnadsfixeringsmedel är 10 % neutralbuffrad formalin.⁷

Samla in prover och förvara dem enligt Histotechnology: A Self Instructional Text.⁷ Skär snitt till lämplig tjocklek, ca 4 µm, och lägg snitten på positivt laddade objektglas.

1. Torka objektglaset.⁷
2. Skriv ut lämplig(a) streckodsetikett(er).
3. Sätt streckodsetiketter på den frostade änden av objektglaset innan du laddar dem på instrumentet (se instrumentets användarhandbok för korrekt applicering av etiketter).

Se avsnittet Bruksanvisning i det rekommenderade protokollet för BenchMark Special Stains-instrumentet.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För användning vid in vitro-diagnostik (IVD).
2. Endast för yrkesmässigt bruk.
3. Använd inte fler gånger än det angivna antalet tester.
4. Positivt laddade objektglas kan vara känsliga för miljöpåverkan vilket kan leda till felaktig färgning. Be din servicerepresentant från Roche om mer information om hur denna typ av objektglas ska användas.
5. Material av humant eller animaliskt ursprung ska hanteras som biologiskt farligt avfall och omhändertas i enlighet med tillämpliga försiktighetsåtgärder. Vid exponering ska de ansvariga myndigheternas hälsodirektiv följas.^{8,9}

- Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon och slemhinnor. Om reagenser kommer i kontakt med känsliga områden ska dessa sköljas med stora mängder vatten.
- Undvik mikrobiell kontaminering av reagenser eftersom det kan orsaka felaktiga resultat.
- Ytterligare information om hur denna produkt används finns i användarhandboken för BenchMark Special Stains-instrumentet och bruksanvisningarna för alla nödvändiga komponenter på navifyportal.roche.com.
- Kontakta lokala och/eller statliga myndigheter angående rekommenderad metod för avfallshantering.
- Produktsäkerhetsmärkningen följer främst EU:s GHS-vägledning. Säkerhetsdatablad finns tillgängligt för professionella användare på begäran.
- För att rapportera misstänkta allvariga händelser relaterade till den här enheten ska man kontakta den lokala Roche-representanten och den behöriga myndigheten i den medlemsstat eller land där användaren är etablerad.

Denna produkt innehåller komponenter som klassificeras enligt följande i enlighet med Förordning (EG) nr 1272/2008:

Tabell 1. Information om risker.

Risk	Kod	Uttalande
 	H290	Kan vara frätande på metaller.
	H314	Orsakar allvariga frätskador på hud och ögonskador.
	H350	Kan orsaka cancer.
	H373	Kan orsaka organskador vid långvarig eller upprepad exponering.
	P201	Följ specialinstruktioner före användning.
	P260	Andas inte in dimma eller ångor.
	P280	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd.
	P303 + P361 + P353	VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten.
	P304 + P340 + P310	VID INANDNING: Flytta personen till en plats med frisk luft och se till att han/hon kan andas. Kontakta omedelbart GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare.
	P305 + P351 + P338 + P310	VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Avlägsna kontaktlinser om sådana bärs och det går lätt. Fortsätt sköljningen. Kontakta omedelbart GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare.
	P308 + P313	Vid exponering eller oro: Sök läkarhjälp.

EUH208: Denna produkt innehåller natriumjodat. Kan framkalla allergisk reaktion.

BRUKSANVISNING

Förbereda reagensrör

Före första användningen måste en flaskinsats och ett aspireringsrör placeras i reagensflaskan.

Ta loss transportlocket från flaskan och placera insatsen och aspireringsröret i flaskan. Insatsen och aspireringsröret ska lämnas kvar i flaskan när flaskan har öppnats.

Färgningsprocedur

- Ladda reagenser och objektglas på instrumentet.
- Sätt det mjuka locket i skåran på reagenshållaren när reagensen används.
- Utför färgningskörningen enligt det rekommenderade protokollet i Tabell 2 och anvisningarna i användarhandboken.
- Avlägsna objektglasen från instrumentet när körningen är slutförd.

- Sätt det mjuka locket på reagensflaskan när reagensen inte används.
- Förvara reagenserna enligt rekommenderade förvaringsförhållanden efter användning.

Rekommenderat protokoll

Parametrarna för de automatiserade procedurerna kan visas, skrivas ut och redigeras i enlighet med metoden i instrumentets användarhandbok.

Följande procedurer ger flexibilitet som passar användarens önskemål. Denna produkt har optimerats för användning tillsammans med BenchMark Special Stains-instrument, men användaren måste validera resultat som erhållits med denna produkt.

Tabell 2. Rekommenderat färgningsprotokoll för PAS Staining Kit på ett BenchMark Special Stains-instrument.

Färgningsprocedur	S PAS
Protokollsteg*	Metod
Avparaffinering	Välj för att automatisera borttagning av paraffin.
Bakning (valfritt)	Standardvärdet har inte valts. 75 °C i 4 minuter rekommenderas.
Optimera PAS	Välj för att möjliggöra justering av PAS Schiff's och Hematoxylin.
Optimera Schiff's för PAS (PAS Schiff's)	Standardvärdet är 45 °C i 20 minuter. Välj för att möjliggöra justering av färgningsintensiteten:** Välj en temperatur från 37 till 60 °C: 37 °C, ljusare Schiff färgningsintensitet 60 °C, mörkare Schiff färgningsintensitet Välj en inkubationstid på 12–20 minuter: 12 minuter, ljusare Schiff-färgningsintensitet 20 minuter, mörkare Schiff-färgningsintensitet.
PAS Hematoxylin	Standardvärdet är 8 minuter. Välj för att möjliggöra justering av inkubationstiden:** 4 minuter, ljusare nukleär färgning 12 minuter, mörkare nukleär färgning

* För att justera färgningspreferenser ska färgningstemperatur och inkubationstid ökas gradvis, en parameter i taget.

** För att justera färgningspreferenser ska färgningstemperatur och inkubationstid ökas gradvis, en parameter i taget.

Rekommenderad efterbehandling av instrument

- Dehydrera objektglasen i två omgångar 95 % etanol för att avlägsna resterande lösning, följt av tre omgångar 100 % etanol.
- Rengör objektglasen i 3 omgångar av 100 % xylol.
- Täckglas med permanenta monteringsmedia.
- Kompatibel med VENTANA HE 600-systemets täckningsprotokoll. Ytterligare anvisningar finns i VENTANA HE 600-systemets användarhandbok.

PROCEDUR FÖR KVALITETSKONTROLL

Exempel på ett positivt kontrollmaterial är human FFPE-vävnad som är känd för att vara glykogenrik, såsom skelettmuskulatur eller lever. Kontrollvävnad bör utgöras av färsk obduktions-, biopsi- eller kirurgiska prover, vilka preparerats eller fixerats så tidigt som möjligt på ett sätt som är identiskt med behandlingen av testsnitten. Sådan vävnad ska utgöra kontroll för alla steg i analysen, från vävnadsberedning till färgning.

Användning av ett vävnadssnitt som är fixerat eller bearbetat på ett annat sätt än testprovet utgör kontroll för alla reagens- och metodsteg utom fixering och vävnadsbearbetning. De cellulära komponenterna i andra vävnadselement kan fungera som negativ kontroll.

Optimal laboratoriepraxis använder ett positivt kontrollsnitt på samma objektglas som testvävnad. Detta bidrar till att identifiera eventuella fel som gäller för reagenserna i objektglaset. Kontrollvävnad kan innehålla både positiva och negativa färgningselement och fungera som både positiv och negativ kontroll.

Kontrollvävnaden måste testas vid varje körning.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att kontrollera korrekt prestanda för bearbetade vävnader och testreagenser, inte som hjälpmedel vid fastställande av en specifik diagnos för testprov.

Om de positiva vävnadskomponenterna inte uppvisar positiv färgning, bör testprovernas resultat anses ogiltiga. Om de negativa vävnadskomponenterna uppvisar positiv färgning, bör resultat med patientprover också anses ogiltiga.

Oförklarliga avvikelser i kontrollresultaten bör omedelbart rapporteras till din lokala supportrepresentant. Om kvalitetskontrollresultaten inte uppfyller specifikationerna är patientresultaten ogiltiga. Orsaken måste identifieras och åtgärdas och patientproverna upprepas.

TOLKNING AV FÄRGNINGSRESULTAT/FÖRVÄNTADE RESULTAT

PAS Staining Kit har testas för att visa glykogen, svamp och källarmembran.

- Glykogen: magenta
- Muciner:⁷ magenta
- Källarmembran: magenta
- Svamp: magenta
- Kärnor: blått till lila
- Bakgrund: rosa

SPECIFIKA BEGRÄNSNINGAR

Endast positivt laddade objektglas för mikroskop har använts och validerats för den här analysen.

Schiff's Reagent är känt för att innehålla nålliknande utfällning. Vid förväntade nivåer bör denna utfällning inte påverka analysens prestanda.

Rosa till röd kubformad utfällning har observerats på objektglas färgade med PAS Staining Kit. Vid förväntade nivåer bör denna utfällning inte påverka tolkningen av analysen.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

Färgningstester för sensitivitet, specificitet och precision utfördes och resultaten sammanfattas nedan.

Sensitivitet och specificitet

Analytisk sensitivitet och specificitet för normal och sjuk vävnad utvärderades. Alla utvärderade vävnadsfall (61/61) har godkänts för godtagbar färgning enligt Tabell 3 and Tabell 4.

Tabell 3. Sensitivitet/specificitet för PAS Staining Kit fastställdes genom att testa följande normala FFPE-vävnader.

Vävnad	Antal godkända fall / Antal testade fall
Njure	5 / 5
Lever	5 / 5
Tunntarm	5 / 5
Skelettmuskulatur	10 / 10

Tabell 4. Sensitivitet/specificitet för PAS Staining Kit fastställdes genom att testa följande FFPE-vävnader.

Vävnad	Antal godkända fall / Antal testade fall
Candida (olika vävnadstyper)	8 / 8
Aspergillus (olika vävnadstyper)	10 / 10
Fokal segmental glomeruloskleros (njure)	4 / 4

Vävnad	Antal godkända fall / Antal testade fall
Glomerulär sjukdom (njure)	5 / 5
Membranös glomerulonefrit (njure)	1 / 1
Membranoproliferativ glomerulonefrit (njure)	2 / 2
Lupusnephropati (njure)	4 / 4
Diabetisk glomeruloskleros (njure)	2 / 2

Precision

Precisionen för PAS Staining Kit fastställdes mellan olika körningar, dagar, instrument och reagenssatser med hjälp av flera skurna snitt från 3 normala levervävnadsfall och 3 normala njurvävnadsfall. Alla acceptanskriterier uppfylldes. Precisionstudier utfördes för PAS Staining Kit enligt Tabell 5.

Tabell 5. Precisionsobjektglasstudier för PAS Staining Kit.

Testade parametrar	Antal villkor	Antal godkända objektglas / Antal testade
Mellan körningar	3 körningar, samma dag	54 / 54
Mellan dagar	5 dagar	88 / 90
Mellan instrument	3 instrument	52 / 54
Inom körning	samma dag, samma instrument	53 / 54
Lot-till-lot	3 loter	54 / 54

KLINISK PRESTANDA

De sensitivitets- och specificitetsegenskaper som är relevanta för den avsedda användningen av denna enhet rapporteras i avsnittet Analytisk prestanda. Dessutom har publicerade data som är relevanta för enheten bedömts genom systematisk litteratursgranskning. Även dessa stöder användning av enheten i enlighet med dess avsedda användning.

FELSÖKNING

1. Snittjockleken kan påverka färgningens kvalitet och intensitet. Kontakta din lokala supportrepresentant för att få hjälp om färgningen är olämplig.
2. Nekrotisk eller autolyserad vävnad kan uppvisa icke-specifik färgning.
3. Om den positiva kontrollen är negativ kan vävnaden ha samlats in, fixerats eller avparaffinerats på fel sätt. Följ korrekt procedur för insamling, förvaring och fixering.
4. Om den positiva kontrollen är negativ ska du kontrollera att objektglaset har rätt streckkodsetikett. Om objektglaset är korrekt märkt ska du kontrollera de andra positiva kontrollerna från samma körning för att fastställa om kontrollerna har färgats korrekt.
5. Om för kraftig bakgrunds-färgning inträffar: ofullständig paraffinborttagning kan orsaka färgningsartefakter eller ingen färgning. Om allt paraffin inte har tagits bort från objektglaset ska du upprepa färgningskörningen med alternativet förlängd avparaffinering, om tillgängligt.
6. Om vävnadssnitt sköljs av objektglaset ska du kontrollera att objektglaset är positivt laddade.
7. Längre förvaring av objektglaset på instrumentet efter avslutad körning kan påverka färgningens kvalitet och intensitet. Vid felaktig färgning ska du omedelbart ta bort objektglaset i slutet av körningen och gå vidare till postinstrumental efterbehandling.
8. Mer information om korrigerande åtgärder hittar du i avsnittet Bruksanvisning i instrumentets användarhandbok eller genom att kontakta din lokala supportrepresentant.

REFERENSER

1. Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier; 2019. Accessed 02/15/2021.

2. Kanungo S, Wells K, Tribett T, et al. Glycogen Metabolism and Glycogen Storage Disorders. Ann Transl Med. 2018;6(24):474.
3. McManus JFA. The Periodic Acid Routine Applied to the Kidney. Am J Pathol. 1948;643-653.
4. Cathro HP, Shen SS, Truong LD. Diagnostic Histochemistry in Medical Diseases of the Kidney. Semin Diagn Pathol. 2018;35(6):360-369.
5. 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.
6. Guarner J, Brandt ME. Histopathologic Diagnosis of Fungal Infections in the 21st Century. Clin Microbiol Rev. 2011;24(2):247-280.
7. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
8. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
9. 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.

OBS! En punkt används i detta dokument alltid som decimalavskiljare för att markera gränsen mellan integralen och bråkdelarna i ett decimaltal. Tusentalsavgränsare används inte.

Symboler

Ventana använder följande symboler och tecken utöver de som anges i standarden ISO 15223-1 (för USA: se elabdoc.roche.com/symbols för ytterligare information).

GTIN GS1-artikelnr

Rx only För USA: Var försiktig: Federal lag begränsar denna enhet till försäljning av eller på ordination av läkare.

VERSIONSHISTORIK

Rev	Uppdateringar
K	Uppdateringar av avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder och uppdaterad till aktuell mall.

IMMATERIALRÄTT

VENTANA, BENCHMARK, och VENTANA HE är varumärken som tillhör Roche. Alla andra produktnamn och varumärken tillhör sina respektive ägare.
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTUPPGIFTER



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

