VENTANA®

CÔNG TY TRÁCH NHIỆM HỮU HẠN ROCHE VIỆT NAM

Trương Thị Tố Hoa
Trưởng phòng Đăng ký,
Đối ngoại và Quản lý Chất lượng

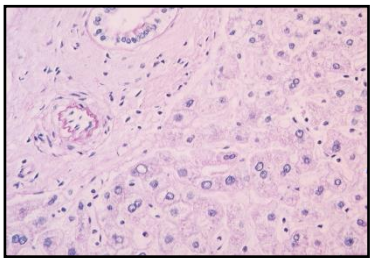
Roche

IVD phân cắt glycogen trên lát cắt mô
Diastase Kit

REF 860-004

05279208001

IVD Σ 75



Hình 1. Diastase Kit nhuộm mô gan.

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Diastase Kit, kết hợp với PAS Staining Kit, được sử dụng trong phòng xét nghiệm làm dung dịch phân cắt glycogen trên các lát cắt mô được cố định bằng formalin, vùi trong paraffin (FFPE) được nhuộm trên máy BenchMark Special Stains.

Sản phẩm này phải được biện luận bởi một bác sĩ giải phẫu bệnh có trình độ chuyên môn kết hợp với kiểm tra mô học, thông tin lâm sàng có liên quan, và mẫu vật liệu kiểm soát thích hợp.

Sản phẩm này được sử dụng trong chẩn đoán *in vitro* (IVD).

TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH

Diastase Kit là bộ kit gồm một chai được sử dụng kết hợp với PAS Staining Kit. PAS Staining Kit là một phiên bản thay đổi của kỹ thuật được mô tả lần đầu tiên bởi McManus vào năm 1946 dùng để quan sát mucin, glycogen, màng nền và vi nấm thông qua sự kết hợp của quá trình oxy hóa polysaccharide bằng acid periodic và nhuộm bằng thuốc thử Schiff. [1]

Trong thực hành, hai lát cắt của cùng một mẫu mô được nhuộm với PAS Staining Kit: trong đó một lát cắt được xử lý trước bằng Diastase, kết quả là trong hai lát cắt được nhuộm PAS, một lát cắt có và một lát cắt không có glycogen, sau đó hai lát cắt được đặt cạnh nhau so sánh để xác định sự hiện diện và sự phân bố của glycogen trong mẫu.

NGUYÊN TẮC CỦA QUY TRÌNH

Diastase phân cắt glycogen hiện diện trong mô, do đó glycogen sẽ được rửa khỏi mô trước khi tiến hành nhuộm PAS. Sự phân cắt bằng Diastase được sử dụng để xác định phân biệt liệu thành phần dương tính với PAS có phải là glycogen hay không. PAS Staining Kit sử dụng thuốc thử Periodic Acid để oxy hóa glycol thành aldehyde. Thuốc thử Schiff's phản ứng với aldehyde để tạo thành một hợp chất dialdehyde không màu, được chuyển thành sự bắt màu đỏ tím của các thành phần tế bào chứa glycol.[2]

Bộ kit được tối ưu hóa để sử dụng trên máy BenchMark Special Stains. Thuốc thử được nhỏ vào mô trên tiêu bản kính hiển vi và trộn đều trong toàn bộ mẫu.

VẬT LIỆU CUNG CẤP

Các lọ thuốc thử được cung cấp trong các giá dán sẵn nhãn mã vạch để đặt vào khay thuốc thử của máy. Mỗi bộ kit chứa lượng thuốc thử đủ cho 75 xét nghiệm:

Một lọ 22 mL Diastase chứa khoảng 1.2 - 5% diastase từ malt, và natri azide là chất bảo quản.

Một lọ chèn (vial insert) với ống hút.

Hoàn nguyên, Trộn, Pha loãng, Chuẩn độ thuốc thử

Không cần thực hiện hoàn nguyên, trộn, pha loãng, hay chuẩn độ các dung dịch của bộ kit. Pha loãng thêm dung dịch có thể dẫn đến chất lượng nhuộm không đạt yêu cầu.

VẬT LIỆU CẦN THIẾT NHƯNG KHÔNG ĐƯỢC CUNG CẤP SẴN

Các sản phẩm liệt kê trong tờ hướng dẫn sử dụng có thể không có sẵn ở tất cả các khu vực địa lý. Vui lòng thảo luận với đại diện hỗ trợ kỹ thuật tại địa phương.

Các thuốc thử và vật liệu sau có thể cần cho quá trình nhuộm nhưng không được cung cấp:

1. Mô vật liệu kiểm soát (mô chứng) được khuyến cáo
2. Lam kính hiển vi, tích điện dương
3. Máy BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (Số danh mục 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (Số danh mục 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (Số danh mục 860-041 / 08309817001)
7. PAS Staining Kit (Số danh mục 860-014 / 05279291001)
8. Trang thiết bị thông thường của phòng xét nghiệm

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

Diastase Kit phải được bảo quản ở 2-8°C. Các thành phần của bộ kit được giữ lạnh phải được đưa về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

Nếu bảo quản đúng, dung dịch chưa mở nắp và đã mở nắp sẽ ổn định đến hạn sử dụng in trên nhãn. Không sử dụng dung dịch đã hết hạn sử dụng in trên nhãn.

Không có dấu hiệu rõ ràng nào giúp phát hiện sự mất ổn định của dung dịch; do đó, các mẫu vật liệu kiểm soát (mẫu chứng) cần được chạy đồng thời với mẫu chưa biết. Vui lòng liên hệ với đại diện hỗ trợ kỹ thuật tại địa phương nếu vật liệu kiểm soát dương tính (mẫu chứng dương) giảm sự bắt màu nhuộm, do đây có thể là dấu hiệu cho thấy thuốc thử không ổn định.

CHUẨN BỊ MẪU

Các mô được cố định bằng formalin, vùi trong paraffin (FFPE), theo quy trình thường quy được yêu cầu để sử dụng với xét nghiệm này và máy BenchMark Special Stains. Dịch cố định mô được khuyến cáo sử dụng là dung dịch đệm formalin trung tính 10%.[2]

Thực hiện lấy và bảo quản mẫu theo tài liệu M29-T2 của CLSI.[3] Cắt thành các lát có độ dày thích hợp, khoảng 4 µm, và đặt lát cắt trên lam kính tích điện dương.

1. Làm khô tiêu bản.[2]
2. In nhãn mã vạch phù hợp.
3. Dán nhãn mã vạch lên phần kính mờ của tiêu bản trước khi đặt tiêu bản lên máy (xem Hướng dẫn vận hành của máy để dán nhãn đúng cách).

Vui lòng tham khảo mục Hướng dẫn sử dụng để biết quy trình khuyến cáo cho máy BenchMark Special Stains.

CẢNH BÁO VÀ THẬN TRỌNG

1. Dùng trong chẩn đoán *in vitro* (IVD).
2. Chỉ dùng cho chuyên viên.
3. **THẬN TRỌNG**: Tại Mỹ, Luật Liên bang giới hạn thiết bị này chỉ được bán bởi hoặc dựa theo yêu cầu của bác sĩ. (Chỉ bán theo đơn)
4. Không sử dụng vượt quá số lượng xét nghiệm được chỉ định.
5. Các lam kính tích điện dương có thể dễ bị ảnh hưởng bởi môi trường dẫn đến sự bắt màu không phù hợp. Liên hệ văn phòng đại diện của Roche để biết thêm thông tin về cách sử dụng các loại lam kính này.
6. Vật liệu có nguồn gốc từ người hoặc động vật nên được xử lý như vật liệu sinh học nguy hiểm và loại thải bằng các biện pháp để phòng thích hợp. Trong trường hợp có phơi nhiễm, tuân thủ theo các hướng dẫn của cơ quan quản lý y tế.[4,5]
7. Tránh để dung dịch tiếp xúc với mắt và niêm mạc. Nếu dung dịch tiếp xúc với các vùng da nhạy cảm, cần rửa với thật nhiều nước.
8. Tránh để nhiễm vi sinh vật vào thuốc thử vì điều này có thể làm sai lệch kết quả.
9. Sản phẩm này chứa natri azide (NaN3). NaN3 tích tụ có thể phản ứng với chì và đồng trong ống nước tạo thành các azide kim loại dễ nổ. Khi thải bỏ, xả với thật nhiều nước để ngăn chặn sự tích tụ azide trong hệ thống ống nước.
10. Tham khảo hướng dẫn sở tại về phương pháp khuyến cáo để loại bỏ chất thải.
11. Để biết thêm thông tin về sử dụng thiết bị này, vui lòng tham khảo Hướng dẫn vận hành máy BenchMark Special Stains, và hướng dẫn sử dụng của tất cả các thành phần cần thiết tại dialog.roche.com.

12. Nhãn an toàn sản phẩm chủ yếu theo hướng dẫn của GHS Châu Âu. Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn để cung cấp cho chuyên viên sử dụng khi có yêu cầu.
13. Để báo cáo nghi ngờ có sự cố nghiêm trọng có thể liên quan đến thiết bị này, vui lòng liên hệ văn phòng Roche tại địa phương và cơ quan có thẩm quyền tại địa phương hoặc quốc gia mà người sử dụng đặt trụ sở.

Sản phẩm này chứa các thành phần được xếp loại theo Quy định (EC) Số 1272/2008:

Bảng 1. Thông tin cảnh báo nguy hiểm.

Cảnh báo	Mã số	Thông tin cảnh báo
Nguy hiểm	H334	Có thể gây dị ứng hoặc các triệu chứng hen suyễn hoặc khó thở nếu hít phải.
	P261	Tránh hít bụi/hơi khói/khí/sương mù/hơi/bụi phun.
	P284	Mang đồ bảo hộ hô hấp.
	P304 + P340	NẾU HÍT PHẢI: Chuyển nạn nhân đến khu vực có không khí sạch và giữ ở tư thế thoải mái để thở.
	P342 + P311	Nếu gặp các triệu chứng về hô hấp: Gọi TRUNG TÂM CHỐNG ĐỘC/ bác sĩ.
	P501	Xử lý các thành phần/dụng cụ chứa ở cơ sở xử lý chất thải đã được chấp thuận.

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Chuẩn bị lọ thuốc thử

Trước khi sử dụng lần đầu, một lọ chèn và ống hút phải được đặt trong lọ thuốc thử.

Mở nắp lọ và đặt lọ chèn và ống hút vào trong lọ. Lọ chèn và ống hút nên để trong lọ thuốc thử khi lọ thuốc thử đã được mở nắp.

Quy trình nhuộm

1. Nạp thuốc thử và tiêu bản vào máy.
2. Đặt nắp mềm vào khe trên bộ phận giữ lọ thuốc thử khi lọ thuốc thử đang được sử dụng.
3. Thực hiện mẻ chạy theo quy trình khuyến cáo trong Bảng 2, và hướng dẫn trong Hướng dẫn vận hành.
4. Khi hoàn tất mẻ chạy, lấy các tiêu bản ra khỏi máy.
5. Sử dụng nắp mềm để đậy lọ thuốc thử khi không sử dụng thuốc thử.
6. Sau khi sử dụng, bảo quản thuốc thử theo điều kiện bảo quản khuyến cáo.

Quy trình khuyến cáo

Các thông số của quy trình tự động hóa có thể được hiển thị, in ra và hiệu đính theo quy trình trong Hướng dẫn vận hành của máy.

Các quy trình sau đây cho phép sự linh hoạt để đáp ứng nhu cầu của người sử dụng. Sản phẩm này đã được tối ưu hóa để sử dụng trên máy BenchMark Special Stains nhưng người sử dụng phải thẩm định kết quả thu được với sản phẩm này.

Bảng 2. Quy trình nhuộm khuyến cáo cho Diastase Kit kết hợp với PAS Staining Kit trên máy BenchMark Special Stains.

Quy trình nhuộm	S PAS
Bước quy trình	**Phương pháp**
Khử paraffin	Chọn khử paraffin tự động.
Nung nóng (tùy chọn)	Mặc định là không chọn. Đề xuất là 75°C trong 4 phút
Diastase	Chọn để kích hoạt Diastase và các tùy chọn cho PAS Diastase.
Tối ưu hóa Diastase (PAS Diastase)	Thời gian mặc định là 4 phút. Chọn để kích hoạt điều chỉnh thời gian ủ từ 4 đến 16 phút.
PAS Alcian Blue cho Diastase* (tùy chọn)	Không chọn. Tùy chọn này phải được thẩm định bởi người sử dụng.
Tối ưu hóa cường độ màu PAS AB	Thời gian mặc định là 8 phút. Chọn thời gian ủ từ 8 đến 16 phút:** 8 phút, nhuộm acid mucin nhạt hơn 16 phút, nhuộm acid mucin đậm hơn
Tối ưu hóa Schiff's cho PAS D (PAS Schiff's)	Mặc định là 50°C trong 20 phút. Chọn để kích hoạt điều chỉnh cường độ màu nhuộm:** Chọn nhiệt độ từ 37 đến 60°C: 37°C, cường độ bắt màu Schiff's nhạt hơn 60°C, cường độ bắt màu Schiff's đậm hơn Chọn thời gian ủ từ 12 đến 20 phút: 12 phút, cường độ bắt màu Schiff's nhạt hơn 20 phút, cường độ bắt màu Schiff's đậm hơn
Tối ưu hóa Hematoxylin (PAS Hematoxylin)	Thời gian mặc định là 8 phút. Chọn để kích hoạt điều chỉnh thời gian ủ:** 4 phút, nhuộm nhân tế bào nhạt hơn 12 phút, nhuộm nhân tế bào đậm hơn

* Có sẵn các tùy chọn quy trình bổ sung cho các sản phẩm có thể được sử dụng kết hợp với PAS Staining Kit và Diastase Kit.

** Để điều chỉnh các tùy chọn nhuộm, tăng nhiệt độ nhuộm và thời gian ủ cho một thông số tại một thời điểm.

Quy trình xử lý khuyến cáo sau chạy máy

1. Rửa tiêu bản hai lần với ethanol 95% để loại bỏ dung dịch còn lại, tiếp theo là ba lần với ethanol 100%.
2. Khử nước tiêu bản bằng cách rửa ba lần với xylene 100%.
3. Phủ với keo dán kính phủ.

Tương thích với quy trình phủ của hệ thống VENTANA HE 600. Để biết thêm thông tin, tham khảo Hướng dẫn vận hành hệ thống VENTANA HE 600.

QUY TRÌNH KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Một ví dụ về vật liệu kiểm soát dương tính (mẫu chứng dương) là mẫu mô người được cố định bằng formalin, vùi trong paraffin, đã biết là có nhiều glycogen, như gan, đã được chứng minh là chứa glycogen trong tế bào chất của tế bào gan.[2] Các mô vật liệu kiểm soát (mô chứng) phải là các mẫu lấy từ tử thiết mới mất, sinh thiết hay phẫu thuật được chuẩn bị hay cố định càng sớm càng tốt theo cùng một phương cách như xử lý các mẫu xét nghiệm. Những mô như vậy sẽ kiểm soát tất cả các bước phân tích, từ bước chuẩn bị mô cho đến bước nhuộm.

Sử dụng một lát cắt mô được cố định hoặc xử lý khác với mẫu xét nghiệm giúp cung cấp mẫu vật liệu kiểm soát (mẫu chứng) cho tất cả các thuốc thử và các bước trong quy trình, ngoại trừ bước cố định và xử lý mô. Các thành phần tế bào của các thành phần khác của mô có thể được sử dụng làm mẫu vật liệu kiểm soát âm tính (mẫu chứng âm).

Thực hành tối ưu trong phòng xét nghiệm phải bao gồm lát cắt vật liệu kiểm soát dương tính (mẫu chứng dương) trên cùng tiêu bản với mô xét nghiệm. Điều này giúp xác định bất kỳ lỗi nào khi áp dụng thuốc thử lên tiêu bản. Mô vật liệu kiểm soát (mô chứng) có thể chứa cả hai thành phần bắt màu dương tính và âm tính và được sử dụng như là mẫu vật liệu kiểm soát dương tính và âm tính.

Mô vật liệu kiểm soát (mô chứng) phải được xét nghiệm trong mỗi mẻ chạy.

Các mẫu mô vật liệu kiểm soát dương tính (mô chứng dương) đã biết chỉ nên được sử dụng để kiểm soát hiệu năng đúng của mô được xử lý và thuốc thử xét nghiệm, không được dùng để hỗ trợ xác định chẩn đoán chuyên biệt cho các mẫu bệnh phẩm.

Nếu các thành phần mô dương tính không bắt màu, kết quả của các mẫu xét nghiệm phải được xem là không có giá trị. Nếu các thành phần âm tính bắt màu, kết quả của các mẫu xét nghiệm phải được xem là không có giá trị.

Những sai lệch không xác định trong các kết quả của mẫu vật liệu kiểm soát (mẫu chứng) cần được tham khảo ngay lập tức với đại diện hỗ trợ kỹ thuật tại địa phương. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt các tiêu chuẩn cần thiết thì kết quả của bệnh nhân không có giá trị. Nguyên nhân phải được xác định và khắc phục, và xét nghiệm lại mẫu bệnh phẩm.

BIỆN LUẬN KẾT QUẢ NHUỘM / KẾT QUẢ MONG MUỐN

Diastase Kit, được sử dụng kết hợp với PAS Staining Kit, được khảo sát để chứng minh việc không có glycogen.

- Không có glycogen: có vết hoặc không có màu đỏ tím
- Nhân tế bào: xanh dương đến tím

Trong thực hành, hai lát cắt của cùng một mẫu mô được nhuộm với PAS Staining Kit: trong đó một lát cắt được xử lý trước bằng Diastase, kết quả là trong hai lát cắt được nhuộm PAS, một lát cắt có và một lát cắt không có glycogen, sau đó hai lát cắt được đặt cạnh nhau so sánh để xác định sự hiện diện và sự phân bố của glycogen trong mẫu. Vui lòng tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của PAS Staining Kit để biết biện luận kết quả nhuộm PAS.

CÁC GIỚI HẠN CHUYÊN BIỆT

Chỉ lam kính hiển vi tích điện dương được sử dụng và được đánh giá cho xét nghiệm này.

ĐẶC TÍNH HIỆU NĂNG

HIỆU NĂNG PHÂN TÍCH

Các khảo sát nhuộm về độ nhạy, độ đặc hiệu, và độ chính xác đã được tiến hành và kết quả được liệt kê dưới đây.

Độ nhạy và Độ đặc hiệu

Độ nhạy phân tích và độ đặc hiệu đã được đánh giá cho các trường hợp mô bình thường. Tất cả các trường hợp mô được đánh giá (61/61) đều bắt màu hợp lệ, như được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Độ nhạy/Độ đặc hiệu của Diastase Kit được xác định bằng cách khảo sát trên các mô bình thường được cố định bởi formalin, vùi trong paraffin sau đây.

Mô	# Trường hợp đạt / # Trường hợp khảo sát
Gan	51 / 51
Cơ	10 / 10

Độ chính xác

Độ chính xác của Diastase Staining Kit được xác định qua nhiều mẻ chạy, nhiều ngày, nhiều máy, và nhiều lô thuốc thử, sử dụng nhiều lát cắt từ 6 mô gan bình thường. Tất cả các tiêu chí chấp nhận đều đáp ứng. Các nghiên cứu về độ chính xác được thực hiện cho Diastase Staining Kit được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4. Các nghiên cứu về độ chính xác của tiêu bản cho Diastase Kit.

Thông số khảo sát	# số điều kiện	# số tiêu bản đạt / # số tiêu bản khảo sát
Giữa các mẻ chạy	3 mẻ, cùng ngày	54 / 54
Giữa các ngày	5 ngày	88 / 90
Giữa các máy	3 máy	53 / 54
Trong một mẻ chạy	cùng ngày, cùng máy	54 / 54
Giữa các lô	3 lô	54 / 54

Các kết quả cho thấy không có khác biệt đáng kể về cường độ màu nhuộm giữa các tiêu bản.

XỬ LÝ SỰ CỐ

1. Độ dày lát cắt có thể ảnh hưởng đến chất lượng và cường độ màu nhuộm. Nếu kết quả bắt màu không phù hợp, vui lòng liên hệ với đại diện hỗ trợ kỹ thuật tại địa phương để được hỗ trợ.
2. Mô hoại tử hoặc tự ly giải có thể bắt màu không đặc hiệu.
3. Nếu mẫu vật liệu kiểm soát dương tính (mẫu chứng dương) không bắt màu, các mẫu mô có thể đã được thu thập, cố định hoặc khử paraffin không đúng cách. Tuân thủ quy trình lấy mẫu, bảo quản và cố định mẫu đúng cách.
4. Nếu mẫu vật liệu kiểm soát dương tính (mẫu chứng dương) không bắt màu, phải kiểm tra tiêu bản có nhãn mã vạch thích hợp. Nếu tiêu bản được dán nhãn đúng, phải kiểm tra các mẫu vật liệu kiểm soát dương tính (mẫu chứng dương) khác được nhuộm đồng thời để xác định liệu các mẫu chứng đã được nhuộm đúng cách.
5. Nếu nền bắt màu quá mức: khử paraffin không hoàn toàn có thể gây ra nhiễu hoặc không bắt màu. Nếu paraffin không được khử hoàn toàn, cần lặp lại quy trình nhuộm với chức năng khử paraffin kéo dài (nếu có).
6. Kéo dài thời gian tiêu bản trên máy sau khi đã hoàn tất mẻ chạy sẽ ảnh hưởng đến chất lượng và cường độ màu nhuộm. Nếu kết quả nhuộm không phù hợp, lấy các tiêu bản ra ngay sau khi hoàn tất mẻ chạy.
7. Nếu các lát cắt mô bị rửa khỏi lam kính, cần kiểm tra các lam kính đã sử dụng để đảm bảo chúng tích điện dương.
8. Để biết hành động khắc phục, vui lòng tham khảo phần Hướng dẫn sử dụng, Hướng dẫn vận hành của máy hoặc liên hệ với đại diện hỗ trợ kỹ thuật tại địa phương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

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.

LƯU Ý: Luôn sử dụng một dấu chấm (dấu chấm câu/dấu chấm hết) trong tài liệu này để ngăn cách phần nguyên và phần thập phân của một số thập phân. Không sử dụng dấu phân cách cho hàng nghìn.

Ký hiệu

Ventana sử dụng các ký hiệu và dấu hiệu sau cùng với các ký hiệu đã liệt kê trong tiêu chuẩn ISO 15223-1 (cho Mỹ: xem dialog.roche.com để biết định nghĩa của các ký hiệu được sử dụng):

GTIN — Mã thương phẩm toàn cầu

UDI — Mã định danh thiết bị duy nhất

Cho biết tổ chức nhập khẩu trang thiết bị y tế vào Liên Minh Châu Âu

SỞ HỮU TRÍ TUỆ

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE và logo VENTANA là các nhãn hiệu của Roche. Tất cả các thương hiệu khác là tài sản của các nhà sở hữu tương ứng.

Những bổ sung, xóa bỏ hoặc thay đổi được thể hiện bằng vạch thay đổi ở phần lề.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

THÔNG TIN LIÊN HỆ

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

www.roche.com

EC REP

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

CE