

Alcian Blue for PAS

REF

860-003

05279194001

IVD

Σ 75

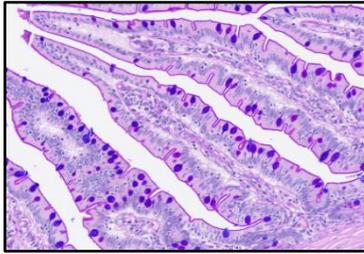


Figure 1. Coloration Alcian Blue for PAS de l'intestin grêle en association avec le PAS Stain Core Kit.

UTILISATION PREVUE

L'Alcian Blue for PAS, associé au PAS Staining Kit OU au PAS Stain Core Kit, est destiné à une utilisation en laboratoire en tant que colorant histologique qualitatif pour différencier en microscopie optique les mucines acides des mucines neutres dans les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) sur l'appareil BenchMark Special Stains.

Ce produit doit être interprété par un anatomopathologiste qualifié, en complément d'examen histologiques,

d'informations cliniques pertinentes et de contrôles adaptés.

Ce produit est conçu pour une utilisation en diagnostic in vitro (IVD).

RESUME ET EXPLICATION

Alcian Blue for PAS est un kit de bouteille unique utilisé conjointement avec le kit PAS VENTANA (PAS Stain Core Kit ou PAS Staining Kit). Les kits PAS VENTANA sont basés sur la première utilisation histochimique de cette technique décrite à l'origine par McManus en 1946 et développée pour visualiser les mucines, le glycogène, la membrane basale et les champignons par oxydation des polysaccharides par l'acide périodique et coloration avec le réactif de Schiff.¹

Les mucines sont un composant clef des cellules caliciformes, des cellules épithéliales de la muqueuse intestinale dont la fonction est de synthétiser et de sécréter du mucus.² Les cellules caliciformes se trouvent habituellement dans les cellules épithéliales sécrétrices de l'intestin grêle et du gros intestin et ne sont généralement pas présentes dans l'œsophage et dans l'estomac.³

L'Alcian Blue for PAS est utilisé pour aider l'anatomopathologiste à identifier les cellules caliciformes. La présence de cellules caliciformes dans l'œsophage et l'estomac est anormale, et la coloration aide l'anatomopathologiste à diagnostiquer la métaplasie intestinale et de l'œsophage de Barrett.

PRINCIPE DE LA PROCEDURE

Les kits PAS VENTANA utilisent le réactif Periodic Acid pour oxyder les glycols en aldéhydes. Le réactif de Schiff forme un composé dialdéhyde incolore qui est transformé en coloration magenta des composants cellulaires avec du glycol.⁴ Les propriétés chimiques d'Alcian Blue permettent la détection grâce à la coloration des mucines faiblement acides dans des cellules caliciformes. L'Alcian Blue for PAS, avec un pH de 2,5, colore en bleu les mucopolysaccharides acides.⁵

Ce kit de détection est optimisé pour une utilisation sur des appareil BenchMark Special Stains. Les réactifs sont appliqués sur les tissus étalés sur les lames de microscope et mélangés sur l'intégralité de la surface de l'échantillon.

MATERIEL FOURNI

Le flacon du réactif est fourni dans un portoir identifié par des étiquettes code-barres, qui est inséré dans le plateau de réactifs de l'appareil. Chaque kit contient suffisamment de réactifs pour 75 tests :

Un flacon de 22 mL d'Alcian Blue contient approximativement 1,2 % de bleu alcian dans une solution d'acide acétique à 3 %.

Un insert de flacon avec des pailles.

Reconstitution, mélange, dilution, titration

Aucune étape de reconstitution, de mélange, de dilution ou de titration des réactifs du kit n'est nécessaire. Une dilution plus poussée des réactifs peut conduire à une coloration non optimale.

Les réactifs de ce kit ont été dilués de façon optimale pour une utilisation sur les appareils BenchMark Special Stains.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Il est possible que certains produits indiqués dans la fiche technique ne soient pas disponibles dans certains pays. Contacter un représentant du service client local.

Les réactifs et le matériel suivants peuvent être nécessaires pour la coloration, mais ne sont pas fournis :

1. Tissus de contrôle recommandés
2. Lames de microscope chargées positivement
3. Appareil BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (réf. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (réf. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (réf. 860-041 / 08309817001)
7. A Kit PAS VENTANA
 - a. PAS Stain Core Kit (réf. 860-048 / 09328823001) et Special Stains Hematoxylin (réf. 860-071 / 09149457001)
 - b. PAS Staining Kit (réf. 860-014 / 05279291001)
8. Matériel courant de laboratoire

CONSERVATION ET STABILITE

L'Alcian Blue for PAS doit être conservé entre 15 et 30 °C.

S'ils sont conservés correctement, les réactifs ouverts et non ouverts sont stables jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration indiquée sur le kit.

Étant donné qu'il n'existe aucun signe évident indiquant l'instabilité de ces réactifs, des contrôles doivent toujours être testés en même temps que les échantillons inconnus. Contacter un représentant du service client local si une baisse de la coloration du contrôle positif est constatée, car cela peut être l'indication de l'instabilité des réactifs.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les tissus utilisés avec ce produit et les appareils BenchMark Special Stains doivent être des tissus FFPE. Le fixateur de tissus recommandé est le formol neutre tamponné à 10 %.⁴

Prélever les échantillons et les conserver conformément au document Histotechnology: A Self Instructional Text.⁴ Préparer des coupes d'une épaisseur appropriée (environ 4 µm) et les monter sur des lames de verre positivement chargées.

1. Sécher les lames.⁴
2. Imprimer une ou plusieurs étiquettes code-barres appropriées.
3. Apposer les étiquettes code-barres sur l'extrémité dépolie des lames avant de les charger sur l'appareil (voir les instructions pour l'apposition correcte des étiquettes dans le guide d'utilisation de l'appareil).

Se reporter à la rubrique Mode d'emploi pour le protocole recommandé pour l'appareil BenchMark Special Stains.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour utilisation en diagnostic in vitro (IVD).
2. Pour utilisation professionnelle uniquement.
3. Ne pas utiliser au-delà du nombre de tests indiqué.
4. Les conditions ambiantes peuvent affecter les lames chargées positivement et conduire à une coloration inappropriée. Un représentant Roche pourra fournir plus d'informations sur l'utilisation de ces types de lames.
5. Les produits d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme du matériel présentant un risque biologique et éliminés en prenant les précautions appropriées. En cas d'exposition à un tel produit, il convient de respecter les directives des autorités de santé compétentes.^{6,7}
6. Éviter tout contact des yeux et des muqueuses avec les réactifs. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.

7. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.
8. Pour plus d'informations sur l'utilisation de ce produit, se référer au guide d'utilisation de l'appareil BenchMark Special Stains et au mode d'emploi de tous les composants nécessaires à l'adresse navifyportal.roche.com.
9. Consulter les autorités locales et/ou nationales pour connaître la méthode d'élimination recommandée.
10. L'étiquetage de sécurité des produits suit principalement les directives SGH de l'UE. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les utilisateurs professionnels.
11. Pour signaler toute suspicion d'événement grave lié à ce dispositif, contacter un représentant Roche local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel le dispositif est utilisé.

MODE D'EMPLOI

Préparation du flacon de réactif

Avant la première utilisation, un insert de flacon et une paille doivent être mis en place dans le flacon de réactif.

Retirer le bouchon d'expédition du flacon et mettre en place l'insert et la paille dans le flacon. Une fois le flacon ouvert, l'insert et la paille doivent être laissés en place dans le flacon.

Procédure de coloration

1. Charger les réactifs et les lames sur l'appareil.
2. Pendant l'utilisation du réactif, ranger le bouchon souple dans la fente sur le support de réactifs.
3. Exécuter le cycle de coloration conformément au protocole recommandé dans le Tableau 1 ou le Tableau 2 et aux instructions du guide d'utilisation.
4. Une fois le cycle terminé, retirer les lames de l'appareil.
5. Boucher le flacon de réactif avec le bouchon souple lorsque le réactif n'est pas utilisé.
6. Après utilisation, conserver les réactifs conformément aux conditions de conservation recommandées.

Protocole recommandé

Les paramètres des procédures automatisées peuvent être affichés, imprimés et modifiés conformément à la procédure décrite dans le guide d'utilisation de l'appareil.

Les procédures suivantes sont adaptables aux préférences de l'utilisateur. Même si ce produit a été optimisé pour une utilisation sur les appareils BenchMark Special Stains, l'utilisateur doit tout de même valider les résultats obtenus avec ce produit.

Tableau 1. Protocole de coloration recommandé pour l'Alcian Blue for PAS avec le PAS Stain Core Kit et le Special Stains Hematoxylin sur un appareil BenchMark Special Stains.

Procédure de coloration	S PAS Alcian Blue
Étape du protocole	Méthode
Déparaffinage	À sélectionner pour exécuter le déparaffinage automatique
Séchage (facultatif)	Le réglage par défaut n'est pas sélectionné. Séchage recommandé à 75 °C pendant 4 minutes.
Diastase*	Non sélectionnée. Cette option doit être validée par l'utilisateur.

Procédure de coloration	S PAS Alcian Blue
Étape du protocole	Méthode
Optimize Alcian Blue Intensity (Alcian Blue)	La durée par défaut est de 8 minutes à 37 °C. À sélectionner pour pouvoir ajuster la durée et la température d'incubation. Sélectionner une température d'incubation de 37 à 60 °C : 37 °C : coloration plus claire de la mucine 60 °C : coloration plus foncée de la mucine Sélectionner une durée d'incubation de 8 à 16 minutes : 8 minutes, coloration plus claire de la mucine 16 minutes, coloration plus foncée de la mucine
Optimize PAS	La méthode par défaut est le Periodic Acid pendant 4 minutes, le réactif Schiff's A + Schiff's B pendant 12 minutes, à 37 °C. À sélectionner pour pouvoir ajuster la durée et la température d'incubation. Sélectionner une température d'incubation de 37 à 60 °C : 37 °C : coloration plus claire de la mucine 60 °C : coloration plus foncée de la mucine Sélectionnez une durée d'incubation du Periodic Acid comprise entre 4 et 20 minutes : 4 minutes, coloration plus claire de la mucine 20 minutes, coloration plus foncée de la mucine. Sélectionner une durée d'incubation de réactif Schiff's A + Schiff's B comprise entre 8 et 20 minutes : 8 minutes, coloration plus claire de la mucine 20 minutes, coloration plus foncée de la mucine.
Optimize Hematoxylin Intensity	La durée par défaut est de 4 minutes. Sélectionner l'option pour permettre le réglage de la durée d'incubation : Pas d'Hematoxylin 4 minutes, coloration nucléaire plus claire 12 minutes, coloration nucléaire plus sombre

* Option de procédure supplémentaire disponible pour les produits pouvant être utilisés conjointement avec le PAS Stain Core kit et l'Alcian Blue for PAS.

** Pour ajuster la coloration à sa convenance, augmenter la température de coloration et la durée d'incubation d'un paramètre à la fois.

Tableau 2. Protocole de coloration recommandé pour l'Alcian Blue for PAS avec le PAS Staining Kit sur un appareil BenchMark Special Stains.

Procédure de coloration	S PAS
Étape du protocole	Méthode
Déparaffinage	À sélectionner pour exécuter le déparaffinage automatique

Procédure de coloration	S PAS
Étape du protocole	Méthode
Séchage (facultatif)	Le réglage par défaut n'est pas sélectionné. Séchage recommandé à 75 °C pendant 4 minutes.
Alcian Blue	Le réglage par défaut n'est pas sélectionné. À sélectionner pour activer les options Alcian Blue et Alcian Blue for PAS.
Diastase for PAS AB* (facultatif)	Non sélectionnée. Cette option doit être validée par l'utilisateur.
Optimize Stain Intensity (PAS Alcian Blue)	La durée par défaut est de 8 minutes. À sélectionner pour permettre l'ajustement de l'intensité de la coloration.** Sélectionner une durée d'incubation de 8 à 16 minutes : 8 minutes, coloration plus claire de la mucine 16 minutes, coloration plus foncée de la mucine
Hematoxylin for Alcian Blue (facultatif)	Le réglage par défaut n'est pas sélectionné. À sélectionner pour permettre l'application d'Hematoxylin. Sélectionner Optimize Hematoxylin Intensity pour permettre l'ajustement de la durée d'incubation de l'Hematoxylin.
Optimize Hematoxylin Intensity (PAS Hematoxylin)	La durée par défaut est de 4 minutes. Sélectionner l'option pour permettre le réglage de la durée d'incubation : 4 minutes, coloration nucléaire plus claire 12 minutes, coloration nucléaire plus sombre

* Option de procédure supplémentaire disponible pour les produits pouvant être utilisés conjointement avec le PAS Staining Kit et l'Alcian Blue for PAS.

** Pour ajuster la coloration à sa convenance, augmenter la température de coloration et la durée d'incubation d'un paramètre à la fois.

Procédure recommandée après traitement sur l'appareil

- Déshydrater les lames dans deux bains successifs d'éthanol à 95 % pour éliminer toute solution résiduelle, puis les plonger dans trois bains successifs d'éthanol à 100 %.
- Clarifier les lames dans 3 bains successifs de xylène à 100 %.
- Coverslip (LCS) avec du milieu de montage permanent.
- Compatible avec le protocole de montage du système VENTANA HE 600. Pour davantage d'instructions, se reporter au guide d'utilisation du système VENTANA HE 600.

PROCEDURE DE CONTROLE QUALITE

Le tissu humain FFPE aux mucines acides et neutres (côlon, intestin grêle, ou glandes salivaires) est un exemple de matériau de contrôle positif. Le tissu de contrôle doit être un échantillon fraîchement prélevé lors d'une autopsie, d'une biopsie ou d'une intervention chirurgicale et préparé ou fixé dès que possible après le prélèvement et de manière identique aux coupes à tester. De tels tissus peuvent servir de contrôle à toutes les étapes de l'analyse, de la préparation des tissus à leur coloration.

L'utilisation d'une coupe de tissu fixé et préparé d'une autre manière que l'échantillon à tester sert de contrôle pour tous les réactifs et toutes les étapes de la méthode, sauf la fixation et la préparation du tissu.

Les composants cellulaires des autres éléments tissulaires peuvent servir de contrôle négatif.

Il est considéré comme bonne pratique de laboratoire d'inclure une coupe de contrôle positive sur la même lame que le tissu à tester. Cela permet d'identifier tout problème d'application des réactifs sur la lame. Le tissu de contrôle peut comprendre à la fois des éléments positifs et des éléments négatifs à la coloration et peut servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif.

Le tissu de contrôle doit être testé à chaque cycle de coloration.

Des tissus de contrôle positif connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier les performances des tissus traités et des réactifs du test, et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur les échantillons des patients.

Si les composants tissulaires qui devraient être positifs ne présentent pas de coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons testés doivent alors être considérés comme non valides. Si les composants qui devraient être négatifs présentent une coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons des patients doivent aussi être considérés comme non valides.

Tout écart inexplicable par rapport aux résultats attendus pour les contrôles doit être signalé à un représentant du service client local. Si les résultats des contrôles qualité ne sont pas conformes aux spécifications, les résultats des patients sont non valides. La cause doit être identifiée et corrigée, et les échantillons des patients doivent être retestés.

INTERPRETATION DE LA COLORATION / RESULTATS ATTENDUS

L'Alcian Blue for PAS, conjointement avec le PAS Stain Core Kit ou le PAS Staining Kit, est testé pour mettre en évidence les mucines acides et neutres.

- Mucines acides : bleu
- Mucines neutres : magenta
- Noyaux : violet

LIMITES SPECIFIQUES

Seules des lames de microscope chargées positivement ont été utilisées et validées pour ce test.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

PERFORMANCES ANALYTIQUES

Des tests de coloration ont été réalisés pour évaluer la sensibilité, la spécificité et la précision. Leurs résultats sont présentés ci-dessous.

Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité analytiques pour des cas de tissus normaux et pathologiques ont été évaluées avec le PAS Stain Core Kit et le PAS Staining Kit. Une coloration acceptable a été obtenue pour tous les cas de tissus évalués (71/71 avec le PAS Stain Core Kit et 93/93 avec le PAS Staining Kit) (Tableau 3 et Tableau 4).

Tableau 3. La sensibilité/spécificité de l'Alcian Blue for PAS a été déterminée par coloration des tissus normaux FFPE suivants.

Tissu	PAS Stain Core Kit Nb de cas concluants/nb de cas testés	PAS Staining Kit Nb de cas concluants/nb de cas testés
Côlon	6/6	6/6
Intestin grêle	10/10	9/9
Œsophage	6/6	7/7
Estomac	6/6	9/9
Peau	6/6	15/15
Glande salivaire	6/6	11/11

Tableau 4. La sensibilité/spécificité d'Alcian Blue for PAS a été déterminée par coloration des tissus pathologiques FFPE suivants.

Tissu	PAS Stain Core Kit Nb de cas concluants/nb de cas testés	PAS Staining Kit Nb de cas concluants/nb de cas testés
Oesophage de Barrett	17/17	11/11
Métaplasie intestinale (oesophage)	7/7	16/16
Métaplasie intestinale (estomac)	7/7	9/9

Précision

La précision de l'Alcian Blue for PAS a été déterminée en association avec le PAS Stain Core Kit et le PAS Staining Kit sur plusieurs cycles, plusieurs jours, plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs en utilisant plusieurs lames de 3 cas de tissus de côlon normaux et de 3 cas de tissus d'intestin grêle normaux. Répondait à tous les critères d'acceptation. Les études de précision ont été réalisées dans les conditions indiquées dans le Tableau 5.

Tableau 5. Études de précision de lames de l'Alcian Blue for PAS.

Paramètres testés	Nb de conditions	PAS Stain Core Kit Nb de cas concluants/nb de cas testés	PAS Staining Kit Nb de cas concluants/nb de cas testés
Intercycles	3 cycles, le même jour	54/54	54/54
Interjours	5 jours	90/90	90/90
Interappareils	3 appareils	54/54	54/54
Intracycle	même jour, même appareil	54/54	54/54
Interlots	3 lots	54/54	54/54

RESOLUTION DES PROBLEMES

- L'épaisseur des coupes peut affecter la qualité et l'intensité de la coloration. Si la coloration n'est pas satisfaisante, demander de l'aide au représentant du service client local.
- Les tissus nécrotiques et autolysés peuvent présenter une coloration non spécifique.
- Si le contrôle positif est négatif, le tissu n'a peut-être pas été correctement prélevé, fixé ou déparaffiné. Suivez la procédure appropriée pour le prélèvement, la conservation et la fixation.
- Si le contrôle positif est négatif, vérifier si la lame porte la bonne étiquette code-barres. Si la lame est correctement étiquetée, vérifier les autres contrôles positifs du même cycle pour déterminer si les contrôles ont été correctement colorés.
- Si la coloration de fond est excessive : un déparaffinage incomplet peut causer des artefacts de coloration ou être à l'origine d'une absence de coloration. Si toute la paraffine n'est pas éliminée de la lame, répéter le cycle de coloration en utilisant l'option Déparaffinage prolongé, si elle est disponible.
- Si les coupes de tissu se détachent des lames, vérifier que les lames sont positivement chargées.
- Le séjour prolongé des lames dans l'appareil après la fin du cycle peut affecter la qualité et l'intensité de la coloration. Si la coloration n'est pas satisfaisante, essayer de retirer les lames dès la fin du cycle et appliquer les procédures après traitement sur l'appareil sans attendre.
- Pour les mesures correctives, consulter la rubrique Mode d'emploi ou le guide d'utilisation de l'appareil, ou contacter un représentant du service client local.

REFERENCES

- Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier, 2019. Accessed 02/15/2021.
- Dao D, Le PH. Histology, Goblet Cells. In 04/09/2020 ed. Treasure Island, FL: StatPearls; 2020.
- Pleskow D, Tolga E. Barrett's Esophagus: Emerging Evidence for Improved Clinical Practice. Elsevier Inc.; 2016.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Fagan C, Dapson RW, Horobin RW, Kiernan JA. Revised tests and standards for Biological Stain Commission certification of Alcian blue dyes. Biotech Histochem. 2020;95(5):333-340.
- 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 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

REMARQUE : Un point est toujours utilisé dans ce document comme séparateur décimal et indique la séparation entre la partie entière et la partie décimale d'un nombre. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Symboles

Ventana utilise les symboles et les signes suivants en plus de ceux indiqués dans la norme ISO 15223-1 (pour les États-Unis, voir elabdoc.roche.com/symbols pour de plus amples informations).



Le Global Trade Item Number ou code article international

Rx only

Pour les États-Unis : Attention : La loi fédérale stipule que ce produit peut uniquement être vendu par un médecin ou sur prescription médicale.

HISTORIQUE DES REVISIONS

Rév.	Mises à jour
H	Mises à jour pour ajouter le PAS Stain Core Kit à Utilisation prévue, Résumé et explication, Principe de la procédure, Matériel nécessaire mais non fourni, Protocole recommandé, Interprétation de la coloration/résultats attendus et Performances analytiques. Mises à jour avec les modèles actuels. Mise à jour de la figure 1.

PROPRIETE INTELLECTUELLE

VENTANA, BENCHMARK et VENTANA HE sont des marques commerciales de Roche. Tous les autres noms de produit et marques commerciales appartiennent à leurs propriétaires respectifs.
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

COORDONNEES



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

