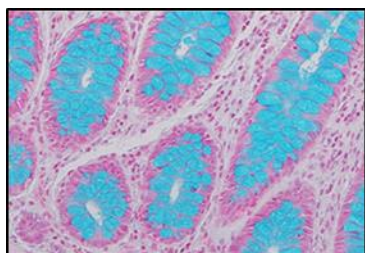


Alcian Blue Staining Kit

REF

860-002

05279186001

IVD
 75


Obr. 1. Barvení tkáně tlustého střeva pomocí soupravy Alcian Blue Staining Kit

URČENÉ POUŽITÍ

Souprava Alcian Blue Staining Kit je určena k laboratornímu použití jako kvalitativní histologické barvivo k prokázání slabě kyselých mukopolysacharidů světelnou mikroskopií v řezech tkáně fixované formalinem, zalité parafinem (FFPE), které jsou barveny na přístroji BenchMark Special Stains.

Tento produkt musí být interpretován kvalifikovaným patologem v kombinaci s histologickým vyšetřením,

relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

Tento produkt je určen pro diagnostické použití in vitro (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Mukopolysacharidy (muciny) jsou klíčovou složkou gobletových buněk, epitelálních buněk střevní sliznice, jejichž funkcí je syntetizovat a vylučovat hlen.¹ Gobletové buňky se běžně vyskytují v epitelu tenkého a tlustého střeva; v jícnu nebo žaludku obvykle chybějí.²

Chemické vlastnosti barviva Alcian Blue umožňují detekovat slabě kyselé muciny v gobletových buňkách. Polysacharidy kyselých, ale nikoli neutrálních, mucinů se s barvivem při pH 2.5 barví modře.^{3,4}

Souprava Alcian Blue Staining Kit se používá jako pomůcka pro patologa při identifikaci gobletových buněk. Přítomnost gobletových buněk v jícnu a žaludku je abnormální a barvení pomáhá patologovi při diagnostice intestinální metaplasie a Barrettova jícnu.

PRINCIP POSTUPU

Barvicí reakce je založena na reakci barviva Alcian Blue o pH 2.5 a polyaniontových sloučenin. Alcian Blue je polyvalentní, zásadité, ve vodě rozpustné barvivo, které získává modrou barvu z mědnaté ftalocyaninové skupiny, která je modifikována kationtovými solubilizačními činidly.^{3,5} Během této reakce vznikají mezi barvivem Alcian Blue a kyselými skupinami kyselých mukopolysacharidů solné vazby, přičemž se zbarvují do modra. Kontrastní barvivo Nuclear Fast Red Counterstain se používá k zajištění kontrastního růžového pozadí.

Tato souprava je optimalizována pro použití na přístrojích BenchMark Special Stains. Reagencie se nanášejí na tkáň na mikroskopických sklíčkách a promíchají se po celém vzorku.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Lahvičky s reagencemi se dodávají v nosičích označených čárovým kódem, které se vkládají do zásobníku reagencie přístroje. Každá souprava obsahuje dostatek reagencie pro 75 testů.

Jedna 22mL lahvička barviva Alcian Blue obsahuje 1.2 % alcianové modři v 3% roztoku kyseliny octové.

Jedna 22mL lahvička kontrastního barviva Nuclear Fast Red Counterstain obsahuje přibližně 0.2 % jaderného barviva Fast Red a přibližně 5 % siranu hlinitého.

Dvě vložky do lahviček s odsávacími hadičkami.

Rekonstituce, mísení, ředění, titrace

Nevyžaduje se rekonstituce, mísení, ředění ani titrace reagencí ze soupravy. Další ředění jakékoli reagencie může vést k neuspokojivému barvení.

Reagencie v této soupravě byly optimálně naředěny pro použití na přístrojích BenchMark Special Stains.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Všechny produkty uvedené v metodickém listu nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obráťte se na místní servisní zastoupení.

Následující reagencie a materiály mohou být při barvení potřebné, nejsou však součástí dodávky:

1. Doporučená kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklíčka, kladně nabitá
3. Přístroj BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (kat. č. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (kat. č. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (kat. č. 860-041 / 08309817001)
7. Obecné laboratorní vybavení

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Souprava Alcian Blue Staining Kit by měla být skladována při teplotě 15–30 °C.

Při správném skladování jsou neotevřené i otevřené reagencie stabilní až do data uvedeného na štítku.

Po uplynutí data expirace, uvedeného na soupravě, reagencii nepoužívejte.

Neexistují žádné zřejmé známky nestability těchto reagencí, proto je třeba neznámé vzorky analyzovat souběžně s kontrolami. Obráťte se na místní servisní zastoupení, pokud materiál pro pozitivní kontrolu vykazuje snížení zabarvení, protože by to mohlo naznačovat nestabilitu reagencí.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití s tímto produktem a přístroji BenchMark Special Stains jsou vyžadovány tkáň FFPE zpracované běžným způsobem. Doporučeným vhodným fixativem na tkáň je 10 % neutrální pufovaný formalin.⁶

Odběr a skladování vzorků provádějte podle publikace Histotechnology: A Self Instructional Text (Histotechnology: učební text pro samostatné studium).⁶ Připravte řezy vhodně tloušťky, přibližně 4 µm, a umístěte je na kladně nabitá podložní sklíčka.

1. Sklíčka osušte.⁶
2. Vytiskněte příslušný štítek (příslušné štítky) s čárovým kódem.
3. Před vložením sklíček do přístroje nalepte na matný konec sklíček štítky s čárovým kódem (správné použití štítků popisuje uživatelská příručka přístroje).

Doporučený protokol pro přístroj BenchMark Special Stains najdete v části Návod k použití.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno k diagnostickému použití in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. **UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony USA omezují prodej tohoto prostředku pouze lékařům nebo na jejich objednávku. (Rx Only).
4. Nepoužívejte nad rámec specifikovaného počtu testů.
5. Kladně nabitá sklíčka mohou být citlivá na zátěž prostředí, což má za následek nevhodné zbarvení. Požádejte zástupce společnosti Roche o další informace o tom, jak používat tyto typy sklíček.
6. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s biologicky nebezpečným materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními. V případě expozice je potřeba se řídit zdravotnickými směrnici odpovědných orgánů.^{7,8}
7. Zabraňte kontaktu reagencí s očima a sliznicemi. Jestliže se reagencie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
8. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagencí, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
9. Další informace o používání tohoto prostředku obsahuje uživatelská příručka přístroje BenchMark Special Stains a návody k použití všech nezbytných součástí, které naleznete na internetových stránkách navifyportal.roche.com.
10. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.
11. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.

12. Pro nahlášení podezřelých závažných incidentů týkajících se tohoto prostředku se obraťte na místního zástupce společnosti Roche a kompetentní orgány členského státu nebo země, ve které uživatel provozuje činnost.

Tento produkt obsahuje součásti klasifikované následovně podle směrnice (ES) č. 1272/2008:

Tab. 1. Informace o rizicích.

Riziko	Kód	Věta
 Nebezpečí	H290	Může být korozivní pro kovy.
	H318	Způsobuje vážné poškození očí.
	P234	Uchovávejte pouze v originálním obalu.
	P280	Používejte ochranné brýle / obličejový štít.
	P305+ P351+ P338+ P310	PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ STŘEDISKO / lékaře.
	P390	Uniklý produkt absorbujte, aby se zabránilo materiálním škodám.

NÁVOD K POUŽITÍ

Příprava lahvičky s reagenty

Před prvním použitím musí být do lahvičky na reagenty vložena vložka a odsávací hadička.

Sejměte přepravní víčko z lahvičky a vložte do ní vložku a hadičku. Po otevření lahvičky by vložka a odsávací hadička měly být ponechány v lahvičce.

Postup barvení

- Vložte reagenty a sklička do přístroje.
- Při používání reagenty vložte měkké víčko do otvoru na držáku reagenty.
- Barvicí cyklus proveďte podle doporučeného protokolu v Tab. 2 a pokynů uvedených v uživatelské příručce.
- Po dokončení cyklu vyjměte sklička z přístroje.
- Pokud se reagenty nepoužívá, měkkým víčkem reagentní lahvičku uzavřete.
- Po použití reagenty skladujte podle doporučených podmínek pro skladování.

Doporučený protokol

Parametry automatických procesů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v uživatelské příručce přístroje.

Následující postupy lze flexibilně přizpůsobit preferencím uživatele. Tento produkt byl optimalizován pro použití s přístroji BenchMark Special Stains, ale uživatel musí výsledky získané s tímto produktem validovat.

Tab. 2. Doporučený barvicí protokol pro soupravu Alcian Blue Staining Kit na přístroji BenchMark Special Stains.

Postup barvení	S Alcian Blue Staining Kit
Postup protokolu	Metoda
Odparafinování	Vyberte pro automatické odstranění parafínu.
Sušení (volitelné)	Výchozí nastavení není vybráno. Doporučuje se 75 °C po dobu 4 minut.
Optimalizace intenzity barvení (Alcian Blue)	Výchozí dobou je 8 minut. Vyberte možnost nastavení intenzity barvení:* Vyberte dobu inkubace od 4 do 20 minut: 4 minut, světlejší zbarvení mucinu 20 minut, tmavší zbarvení mucinu

Postup barvení	S Alcian Blue Staining Kit
Postup protokolu	Metoda
Optimalizace intenzity kontrastního barvení (Alcian Blue NFR)	Výchozí dobou jsou 4 minuty. Vyberte možnost nastavení intenzity kontrastního barvení:* Vyberte dobu inkubace od 4 do 16 minut: 4 minuty, světlejší kontrastní barvivo 16 minut, tmavší kontrastní barvivo

* Chcete-li upravit preference barvení, zvyšujte teplotu barvení a dobu inkubace postupně po jednom parametru.

Doporučené zpracování po obarvení v přístroji

- Dehydratujte sklička ve dvou dávkách 95 % etanolu, abyste odstranili zbylý roztok, a poté třemi dávkami 100 % etanolu.
- Vyčistěte sklička ve 3 dávkách 100 % xylenu.
- Krycí skličko s trvalým fixačním médiem.

Kompatibilní s protokolem podavače krycích sklíček systému VENTANA HE 600. Další pokyny najdete v uživatelské příručce systému VENTANA HE 600.

POSTUP KONTROLY KVALITY

Příkladem materiálu pro pozitivní kontrolu může být lidská tkáň FFPE s přítomností kyselých mucinů nebo kyselých mukopolysacharidů, například tkáň tlustého nebo tenkého střeva. Kontrolní tkáň by měla být čerstvé vzorky z pitvy, biopsie nebo vzorky z operace, připravené a fixované co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy. Takové tkáně mohou monitorovat všechny kroky analýzy – od přípravy tkáně až po barvení.

Použití tkáňového řezu fixovaného nebo zpracovaného odlišně od testovaného vzorku poskytuje kontrolu všech reagentů a kroků metody kromě fixace a zpracování tkání. Jako negativní kontrola mohou sloužit buněčné složky jiných tkáňových prvků.

Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné skličko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagenty na skličko pak lze snáze zjistit případné závady. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené prvky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu.

V každém cyklu je třeba testovat také kontrolní tkáň.

Známe pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce zpracovaných tkání a testovacích reagentů, nikoli jako pomůcku k formulování konkrétní diagnózy u patientských vzorků.

Pokud pozitivní složky tkání pozitivní zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky u testovaných vzorků za neplatné. Pokud negativní složky vykazují pozitivní barvení, měly by být výsledky pro patientské vzorky považovány za neplatné.

Nevysvětlitelné rozpory ve výsledcích kontrol je třeba neprodleně nahlásit na místní servisní zastoupení. Pokud výsledky kontroly kvality nesplňují specifikace, výsledky pacienta jsou neplatné. Musí být identifikována a odstraněna příčina a patientské vzorky zanalyzovány znovu.

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Souprava Alcian Blue Staining Kit je při výrobě testována, aby prokázala přítomnost slabě kyselých mukopolysacharidů.

Slabě kyselé mukopolysacharidy (muciny): jasně modré

Jádra: růžová až červená

Cytoplazma: růžová

Modré zbarvení bylo pozorováno u jiných buněk, než jsou gobletové buňky.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Pro tento test byla použita a validována pouze mikroskopická sklička s kladným nábojem.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Níže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se senzitivity, specifity a preciznosti.

Senzitivita a specificita

Byla hodnocena analytická senzitivita a specificita pro běžné a nemocné gastrointestinální tkáně. Šedesát jedna z 62 (98.4 %) hodnocených případů tkání bylo obarveno přijatelně, jak uvádějí Tab. 3 a Tab. 4.

Tab. 3. Senzitivita/specificita soupravy Alcian Blue Staining Kit byla stanovena testováním následujících běžných tkání FFPE.

Tkáň	Počet úspěšných případů / počet testovaných případů
Jícen	7 / 7
Žaludek	10 * / 11
Tenké střevo	9 / 9
Tlusté střevo	5 / 5

* V jednom případě bylo pozorováno nadměrné množství modrého zbarvení v jiných buňkách, než jsou gobletové buňky

Tab. 4. Senzitivita/specificita soupravy Alcian Blue Staining Kit byla stanovena testováním následujících nemocných tkání FFPE.

Tkáň	Počet úspěšných případů / počet testovaných případů
Intestinální metaplazie (žaludek)	8 / 8
Intestinální metaplazie (jícen)	8 / 8
Barrettův jícen	14 / 14

Preciznost

Preciznost soupravy Alcian Blue Staining Kit byla stanovena pro několik cyklů, dnů, nástrojů a šarží reagentů s použitím několika sklíček s připravenými řezy ze 3 případů běžné tkáně tlustého střeva a 3 případů běžné tkáně tenkého střeva. Všechna kritéria přijatelnosti byla zcela splněna. Studie preciznosti se sklíčky pro soupravu Alcian Blue Staining Kit byly provedeny podle Tab. 5.

Tab. 5. Studie preciznosti se sklíčky pro soupravu Alcian Blue Staining Kit.

Testované parametry	Počet podmínek	Počet úspěšných sklíček / počet testovaných sklíček
Mezi cykly	3 cykly, stejný den	54 / 54
Mezi dny	5 dní	90 / 90
Mezi přístroji	3 přístroje	54 / 54
V rámci cyklu	Stejný den, stejný přístroj	54 / 54
Mezi šaržemi	3 šarže	54 / 54

ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

1. Tloušťka řezy může ovlivnit kvalitu a intenzitu barvení. Pokud barvení neodpovídá, požádejte o pomoc místní servisní zastoupení.
2. Nekrotická nebo autolyzovaná tkáň může vykazovat nespecifické zbarvení.
3. Pokud je pozitivní kontrola negativní, tkáň mohla být nesprávně odebrána, fixována nebo odparafinována. Při odběru, skladování a fixaci dodržujte správný postup.
4. Pokud je pozitivní kontrola negativní, zkontrolujte, zda má sklíčko správný štítek s čárovým kódem. Pokud je sklíčko správně označeno, zkontrolujte ostatní pozitivní kontroly ze stejného cyklu, abyste zjistili, zda byly kontroly správně obarveny.
5. Dojde-li k nadměrnému barvení pozadí: neúplné odstranění parafinu může způsobit vznik artefaktů barvení nebo nemusí dojít k žádnému barvení. Pokud ze sklíčka nebyl odstraněn veškerý parafin, barvicí cyklus zopakujte s použitím rozšířené možnosti odparafinování, je-li k dispozici.

6. Pokud se tkáňové řezy ze sklíčka vymývají, ujistěte se, že jsou sklíčka kladně nabitá.
7. Prodloužené setrvání sklíček v přístroji po dokončení cyklu může ovlivnit kvalitu a intenzitu barvení. Pokud je barvení nevhodné, vyjměte sklíčka ihned po skončení cyklu a pokračujte ve zpracování po obarvení v přístroji.
8. Nápravná opatření najdete v části Návod k použití, v uživatelské příručce přístroje, případně se obraťte na místní servisní zastoupení.

LITERATURA

1. Dao D, Le, PH. Histology, Goblet Cells. In:04/09/2020 ed. Treasure Island, FL: StatPearls; 2020.
2. Pleskow D, Tolga E. Barrett's Esophagus: Emerging Evidence for Improved Clinical Practice. Elsevier Inc.; 2016.
3. Scott JE. Alcian dyes: I.C.I. cease manufacture and release details of composition. Histochemie. 1973;37(4):379-380.
4. Scott JE, Quintarelli G, Dellovo MC. The chemical and histochemical properties of Alcian Blue. I. The mechanism of Alcian Blue staining. Histochemie. 1964;4(2):73-85.
5. 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.
6. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.

POZNÁMKA: V tomto dokumentu se jako symbol pro oddělování celého čísla a desetinných míst používá vždy tečka. Oddělovače pro tisíce se nepoužívají.

Souhrn bezpečnosti a funkčnosti naleznete zde:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symboly

Společnost Ventana používá následující symboly a znaky nad rámec uvedený v normě ISO 15223-1 (pro USA: další informace naleznete na internetových stránkách elabdoc.roche.com/symbols).



Číslo položky Global Trade



Jedinečná identifikace prostředku



Označuje subjekt dovážející zdravotnický prostředek do Evropské unie

HISTORIE REVIZÍ

Rev.	Aktualizace
L	Aktualizace oddílů Upozornění a bezpečnostní opatření, Literatura a Symboly.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

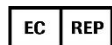
VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE a logo VENTANA jsou ochranné známky společnosti Roche. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTNÍ INFORMACE

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

www.ventanamedical.com



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

