

Alcian Blue for PAS

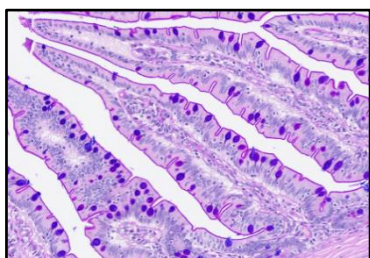
REF

860-003

05279194001

IVD

Σ 75



Фиг. 1. Оцветяване с Alcian Blue for PAS на тъкани от тънкото черво заедно с PAS Stain Core Kit.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Alcian Blue for PAS в комбинация с PAS Staining Kit ИЛИ PAS Stain Core Kit е предназначено за лабораторна употреба като качествено хистологично багрило за разграничаване между киселинни и неутрални муцини чрез светлинна микроскопия в срезове от фиксирана с формалин тъкан в парафин (FFPE) на инструмент BenchMark Special Stains.

Този продукт трябва да се интерпретира от квалифициран

патолог във връзка с хистологично изследване, съответна клинична информация и подходящи контроли.

Този продукт е предназначен за in vitro диагностична (IVD) употреба.

РЕЗЮМЕ И ОБЯСНЕНИЕ

Alcian Blue for PAS е комплект, състоящ се от едно шише, който се използва заедно с комплект VENTANA PAS (PAS Stain Core Kit или PAS Staining Kit). Комплектите VENTANA PAS са базирани на първото хистохимично използване на тази техника, първоначално описана от McManus през 1946 г., за визуализиране на муцини, гликоген, базална мембрана и гъбични организми чрез комбинацията от окисление на полизахариди чрез периодична киселина и оцветяване с реактива на Schiff.¹

Муцините са ключов компонент на гоблетовите клетки, чревни лигавични епителни клетки, чиято функция е да синтезират и секретират мукус.² Гоблетовите клетки обикновено се намират в секреторните епителни клетки на тънките и дебелите черва и обикновено липсват в хранопровода или стомаха.³

Alcian Blue for PAS се използва за подпомагане на патолога при идентификация на гоблетови клетки. Наличието на гоблетови клетки в хранопровода и стомаха не е нормално и оцветяването помага на патолога при диагностицирането на чревна метаплазия и хранопровод на Barrett.

ПРИНЦИП НА ПРОЦЕДУРАТА

Комплектите VENTANA PAS използват реактив Periodic Acid за окисляване на гликоли до алдехиди. Реактивът на Schiff образува безцветно диалдехидно съединение, което се трансформира до пурпурно оцветяване на клетъчни компоненти, съдържащи гликол.⁴ Химическите свойства на Alcian Blue позволяват на багрилото да открива слабо киселинни муцини в гоблетови клетки. Alcian Blue for PAS с pH 2,5 оцветява киселинните мукополизахариди в синьо.⁵

Този комплект е оптимизиран за използване на инструменти BenchMark Special Stains. Реактивите се прилагат на тъкан върху микроскопски предметни стъкла и се смесват по цялата проба.

ПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Флаконът с реактив се доставя в носещ елемент, обозначен с баркод, който се поставя в тавата за реактиви на инструмента. Всеки комплект съдържа достатъчно количество реактив за 75 теста:

Един флакон от 22 mL с Alcian Blue съдържа приблизително 1.2 % алцианово синьо в 3 % разтвор на оцетна киселина.

Една вложка за флакон със сламка за отливане.

Разтваряне, смесване, разреждане, титруване

Не е необходимо разтваряне, смесване, разреждане или титруване на реактивите от комплекта. Допълнително разреждане на който и да е реактив може да доведе до незадоволително оцветяване.

Реактивите в този комплект са оптимално разредени за използване на инструменти BenchMark Special Stains.

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Някои от продуктите, изброени в листовката за метода, могат да липсват в някои географски райони. Консултирайте се с местния представител за поддръжка.

Следните реактиви и материали може да са необходими за оцветяване, но да не са предоставени:

1. Препоръчителна контролна тъкан
2. Предметни стъкла за микроскоп, заредени положително
3. Инструмент BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (кат. номер 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (кат. номер 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (кат. номер 860-041 / 08309817001)
7. Комплект VENTANA PAS
 - a. PAS Stain Core Kit (кат. номер 860-048 / 09328823001) и Special Stains Hematoxylin (кат. номер 860-071 / 09149457001)
 - b. PAS Staining Kit (кат. № 860-014 / 05279291001)
8. Лабораторно оборудване с общо предназначение

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Alcian Blue for PAS трябва да се съхранява при 15–30 °C.

Когато се съхраняват правилно, неотворените и отворените реактиви са стабилни до датата, посочена на етикета. Не използвайте реактив след срока на годност, посочен на комплекта.

Няма очевидни признаци, които да показват нестабилност на тези реактиви; следователно контроли трябва да се обработват едновременно с неизвестни проби. Свържете се с местния представител за поддръжка, ако положителен контролен материал покаже намалено оцветяване, тъй като това може да е признак за нестабилност на реактива.

ПОДГОТОВКА НА ПРОБАТА

FFPE трябва да се използва с този продукт и инструментите BenchMark Special Stains. Препоръчителният фиксатор на тъкан е 10 % неутрален буфериран формалин.⁴

Извършете взимане и съхранение на проби съгласно Histotechnology: A Self Instructional Text⁴ Срежете срезове с подходящата дебелина, приблизително 4 µm, и ги поставете върху позитивно заредени предметни стъкла.

1. Подсушете предметните стъкла.⁴
2. Разпечатайте подходящ(и) етикет(и) с баркод.
3. Поставете етикети с баркодове върху матирания край на предметните стъкла, преди да заредите предметните стъкла върху инструмента (вижте Ръководството на потребителя на инструмента за правилното поставяне на етикетите).

Направете справка с раздела „Инструкции за използване“ за препоръчителния протокол за инструмента BenchMark Special Stains.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. За in vitro диагностична (IVD) употреба.
2. Само за професионална употреба.
3. Не използвайте за повече от определения брой тестове.
4. Положително заредените предметни стъкла могат да бъдат податливи на въздействията на околната среда, което да доведе до неподходящо оцветяване. Попитайте представител на Roche за повече информация относно употребата на този тип предметни стъкла.
5. Материалите от човешки или животински произход трябва да се третират като биологично опасни материали и да се изхвърлят при подходящи предпазни мерки. В случай на експозиция трябва да се спазват здравните директиви на отговорните органи.^{6,7}

- Избягвайте контакт на реактивите с очите и лигавиците. Ако реактивите влязат в контакт с чувствителни зони, измийте обилно с вода.
- Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, тъй като това може да доведе до неправилни резултати.
- За допълнителна информация относно употребата на това изделие вижте Ръководство за потребителя за инструмента BenchMark Special Stains, както и инструкциите за използване, за всички необходими компоненти на адрес navifyportal.roche.com.
- Консултирайте се с местните и/или държавните органи относно препоръчания метод за изхвърляне.
- Етикетирането за безопасност на продуктите следва основно насоките на ЕС за GHS. Информационен лист за безопасност е на разположение на професионалния потребител при поискване.
- За да съобщите подозирани сериозни инциденти, свързани с това изделие, свържете се с местния представител на Roche и компетентния орган на държавата членка или държавата, в която е установен потребителят.

ИНСТРУКЦИИ ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ

Подгответе флакон с реактив

Преди първото използване във флакона с реактив трябва да бъдат поставени вложка за флакон и сламка за отливане.

Свалете транспортната капачка от флакона и поставете вложката и сламката във флакона. Вложката и сламката за отливане трябва да останат във флакона, след като веднъж бъде отворен.

Процедура на оцветяване

- Заредете реактивите и предметните стъкла върху инструмента.
- Поставете меката капачка в слота на държателя за реактиви, когато реактивът се използва.
- Извършете цикъла на оцветяване съгласно препоръчителния протокол в Таб. 1 или Таб. 2 и инструкциите в Ръководство на потребителя.
- Когато цикълът завърши, отстранете предметните стъкла от инструмента.
- Използвайте меката капачка, за да покриете флакона с реактива, когато реактивът не се използва.
- След използване съхранявайте реактивите съгласно препоръчителните условия на съхранение.

Препоръчителен протокол

Параметрите за автоматизираните процедури може да бъдат показани, отпечатани и редактирани в съответствие с процедурата в Ръководство на потребителя за инструмента.

Следните процедури позволяват гъвкавост с оглед адаптиране спрямо предпочитанията на потребителя. Този продукт е оптимизиран за използване с инструменти BenchMark Special Stains, но потребителят трябва да потвърди резултатите, получени с този продукт.

Таб. 1. Препоръчителен протокол за оцветяване за Alcian Blue for PAS с PAS Stain Core Kit и Special Stains Hematoxylin на инструмент BenchMark Special Stains.

Процедура на оцветяване	S PAS Alcian Blue
Стъпка от протокола	Метод
Депарафинизация	Изберете да автоматизирате отстраняването на парафина
Изпичане (по избор)	По подразбиране не е избрано. Препоръчва се 75 °C за 4 минути.
Diastase*	Не е избрано. Тази опция трябва да бъде валидирана от потребителя.

Процедура на оцветяване	S PAS Alcian Blue
Стъпка от протокола	Метод
Optimize Alcian Blue Intensity (Alcian Blue)	По подразбиране е 8 минути при температура 37 °C. Изберете, за да активирате настройката на времето и температурата на инкубация. Изберете температура на инкубация от 37 °C до 60 °C: 37 °C, по-слабо оцветяване на муцина 60 °C, по-тъмно оцветяване на муцина Изберете време на инкубация от 8 до 16 минути: 8 минути, по-слабо оцветяване на муцина 16 минути, по-силно оцветяване на муцина
Optimize PAS	По подразбиране е Periodic Acid за 4 минути, Schiff's A + Schiff's B за 12 минути при температура 37 °C. Изберете, за да активирате настройката на времето и температурата на инкубация. Изберете температура на инкубация от 37 °C до 60 °C: 37 °C, по-слабо оцветяване на муцина 60 °C, по-тъмно оцветяване на муцина Изберете време на инкубация на Periodic Acid от 4 до 20 минути: 4 минути, по-слабо оцветяване на муцина 20 минути, по-силно оцветяване на муцина Изберете време на инкубация за Schiff's A + Schiff's B от 8 до 20 минути: 8 минути, по-слабо оцветяване на муцина 20 минути, по-силно оцветяване на муцина
Optimize Hematoxylin Intensity	По подразбиране е 4 минути. Изберете, за да активирате настройката на времето на инкубация: Без Hematoxylin 4 минути, по-слабо ядрено оцветяване 12 минути, по-силно ядрено оцветяване

* Опция за допълнителна процедура, налична за продукти, които могат да се използват заедно с PAS Stain Core Kit и Alcian Blue for PAS.

**За да настроите предпочитанията за оцветяване, увеличавайте на стъпки температурата и времето на инкубация за оцветяване по един параметър наведнъж.

Таб. 2. Препоръчителен протокол за оцветяване за Alcian Blue for PAS с PAS Staining Kit на инструмент BenchMark Special Stains.

Процедура на оцветяване	S PAS
Стъпка от протокола	Метод
Депарафинизация	Изберете да автоматизирате отстраняването на парафина

Процедура на оцветяване	S PAS
Стъпка от протокола	Метод
Изпичане (по избор)	По подразбиране не е избрано. Препоръчва се 75 °C за 4 минути.
Alcian Blue	По подразбиране не е избрано. Изберете, за да активирате опциите Alcian Blue и Alcian Blue for PAS.
Diastase for PAS AB* (по избор)	Не е избрано. Тази опция трябва да бъде валидирана от потребителя.
Optimize Stain Intensity (PAS Alcian Blue)	По подразбиране е 8 минути. Изберете, за да активирате настройката на наситеността на оцветяването.** Изберете време на инкубация от 8 до 16 минути: 8 минути, по-слабо оцветяване на муцина 16 минути, по-силно оцветяване на муцина
Hematoxylin for Alcian Blue (по избор)	По подразбиране не е избрано. Изберете, за да активирате приложение на Hematoxylin. Изберете Optimize Hematoxylin Intensity, за да активирате настройката на времето за инкубация за Hematoxylin.
Optimize Hematoxylin Intensity (PAS Hematoxylin)	По подразбиране е 4 минути. Изберете, за да активирате настройката на времето на инкубация: 4 минути, по-слабо ядрено оцветяване 12 минути, по-силно ядрено оцветяване

*Опция за допълнителна процедура, налична за продукти, които могат да се използват заедно с PAS Staining Kit и Alcian Blue for PAS.

**За да настроите предпочитанията за оцветяване, увеличавайте на стъпки температурата и времето на инкубация за оцветяване по един параметър наведнъж.

Препоръчителна обработка след инструмента

1. Дехидрирайте предметните стъкла в две смени с 95 % етанол, за да премахнете остатъците от разтвор, след което в три смени със 100 % етанол.
2. Почистете предметните стъкла в 3 смени със 100 % ксилен.
3. Покрийте със среда за постоянно закрепване.
4. Съвместим с протокола за покриване на системата VENTANA HE 600. За допълнителни инструкции вижте ръководството на потребителя за системата VENTANA HE 600.

ПРОЦЕДУРА ЗА КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

Пример за материал за положителна контрола би била човешка FFPE с налични киселинни и неутрални муцини (дебело черво, тънко черво или слюнчени жлези). Контролната тъкан трябва да бъде от прясна аутопсионна, биопсична или хирургична проба, подготвена или фиксирана възможно най-скоро по начин, идентичен на тестовите срезове. Такива тъкани трябва да проследяват всички стъпки на анализа – от подготовката на тъканта до оцветяването.

Използване на тъканен срез, фиксиран или обработен по различен начин от тестовата проба, осигурява контрол за всички реактиви и етапи на метода, с изключение на фиксирането и обработката на тъкани.

Клетъчните компоненти на други тъканни елементи може да служат като отрицателна контрола.

Оптималната лабораторна практика е да се включи положителен контролен срез на същото предметно стъкло като тестовата тъкан. Това помага да се идентифицират евентуални грешки при нанасяне на реактиви върху предметното стъкло.

Контролната тъкан може да съдържа както положителни, така и отрицателни оцветяващи се елементи и да служи както като положителна, така и като отрицателна контрола.

Контролната тъкан трябва да бъде тествана с всеки цикъл.

Известните положителни тъканни контроли трябва да се използват само за проследяване на правилното функциониране на обработените тъкани и тестовите реактиви, а не като помощ при формулиране на конкретна диагноза на пациентски проби.

Ако положителните тъканни компоненти не показват положително оцветяване, резултатите с тестовите проби трябва да се считат за невалидни. Ако отрицателните компоненти показват положително оцветяване, резултатите с пациентските проби трябва също да се считат за невалидни.

Необясними несъответствия по отношение на резултатите от контрола трябва незабавно да бъдат отнесени до местния представител за поддръжка. Ако резултатите от контрола на качеството не отговарят на спецификациите, пациентските резултати са невалидни. Причината трябва да бъде установена и коригирана, а пациентските проби да бъдат повторени.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА ОЦВЕТЯВАНЕТО/ОЧАКВАНИ РЕЗУЛТАТИ

Тества се Alcian Blue for PAS заедно с PAS Stain Core Kit или PAS Staining Kit за демонстриране на киселинни и неутрални муцини.

- Киселинни муцини: синьо
- Неутрални муцини: пурпурно
- Ядра: лилаво

СПЕЦИФИЧНИ ОГРАНИЧЕНИЯ

За този анализ са използвани и одобрени само положително заредени микроскопски предметни стъкла.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

Проведени са тестове за оцветяване за чувствителност, специфичност и точност и резултатите са изброени по-долу.

Чувствителност и специфичност

Аналитичната чувствителност и специфичност за случаи на нормална и увредена тъкан са оценени заедно с PAS Stain Core Kit и PAS Staining Kit. Всички оценени тъканни случаи (71/71 с PAS Stain Core Kit и 93/93 с PAS Staining Kit) са преминали успешно тестовите за приемливо оцветяване, както е показано в Таб. 3 и Таб. 4.

Таб. 3. Чувствителността/специфичността на Alcian Blue for PAS е определена чрез тестване на следните нормални FFPE тъкани.

Тъкан	PAS Stain Core Kit Брой успешни случаи/брой тествани	PAS Staining Kit Брой успешни случаи/брой тествани
Дебело черво	6/6	6/6
Тънко черво	10/10	9/9
Хранопровод	6/6	7/7
Стомах	6/6	9/9
Кожа	6/6	15/15
Слюнчена жлеза	6/6	11/11

Таб. 4. Чувствителността/специфичността на Alcian Blue for PAS е определена чрез тестване на следните патологични FFPE тъкани.

Тъкан	PAS Stain Core Kit Брой успешни случаи/брой тествани	PAS Staining Kit Брой успешни случаи/брой тествани
Баретов хранопровод	17/17	11/11
Чревна метаплазия (хранопровод)	7/7	16/16
Чревна метаплазия (стомах)	7/7	9/9

Точност

Точността на Alcian Blue for PAS е определена заедно с PAS Stain Core Kit и PAS Staining Kit в множество цикли, дни, инструменти, както и при различни партии реактиви с използване на множество предметни стъкла със срезове от 3 случая на нормална дебелочревна тъкан и 3 случая на нормална тънкоочревна тъкан. Всички критерии за приемане са напълно изпълнени. Проведени са проучвания за точност според Таб. 5.

Таб. 5. Изследвания за точност с предметни стъкла за Alcian Blue for PAS.

Тествани параметри	Брой условия	PAS Stain Core Kit Брой успешни случаи/брой тествани	PAS Staining Kit Брой успешни случаи/брой тествани
При различни цикли	3 цикъла, в един ден	54/54	54/54
В различни дни	5 дни	90/90	90/90
На различни инструменти	3 инструмента	54/54	54/54
Между цикли	в един ден, на един инструмент	54/54	54/54
При различни партии	3 партии	54/54	54/54

ОТСТРАНЯВАНЕ НА НЕИЗПРАВНОСТИ

- Дебелината на среза може да повлияе на качеството и наситеността на оцветяването. Ако оцветяването е неправилно, се свържете с местния представител за поддръжка за оказване на съдействие.
- Некротизирана или автолизирана тъкан може да прояви неспецифично оцветяване.
- Ако положителната контрола е отрицателна, има вероятност тъканта да е била неправилно взета, фиксирана или депарафинизирана. Спазвайте правилната процедура за вземане, съхранение и фиксиране.
- Ако положителната контрола е отрицателна, проверете дали предметното стъкло е с правилния етикет с баркод. Ако предметното стъкло е с правилния етикет, проверете останалите положителни контроли от същия цикъл, за да установите дали контролите са били правилно оцветени.
- При прекомерно фоново оцветяване: непълно отстраняване на парафина може да причини артефакти в оцветяването или липса на оцветяване. Ако целият парафин не е отстранен от предметното стъкло, повторете цикъла на оцветяване, като използвате опцията за удължена депарафинизация, ако е налична.
- Ако тъканни срезове бъдат отмити от предметното стъкло, се уверете, че предметните стъкла са положително заредени.
- Продължителният престой на предметни стъкла в инструмента след завършване на цикъла може да повлияе на качеството и интензивността на оцветяването. Ако оцветяването е неподходящо, отстранете незабавно

предметните стъкла в края на цикъла и пристъпете към обработка след инструмента.

- За коригиращи действия вижте раздела „Инструкции за използване“, Ръководството на потребителя за инструмента или се свържете с местния представител за поддръжка.

РЕФЕРЕНЦИИ

- 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.

ЗАБЕЛЕЖКА: В този документ винаги се използва точка като десетичен разделител за маркиране на границата между интегралната и дробната част на десетично число. Разделители за хиляди не се използват.

Символи

Ventana използва следните символи и знаци в допълнение към изброените в стандарта ISO 15223-1 (за САЩ: вижте elabdoc.roche.com/symbols за повече информация).



Глобален номер на търговска единица

Rx only

За САЩ: Внимание: Федералният закон ограничава продажбата на това изделие от или по указание на лекар.

ИСТОРИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

Ред.	Актуализации
Н	Актуализиране за добавяне на PAS Stain Core Kit към разделите Предназначение, Резюме и обяснение, Принцип на процедурата, Необходими, но непредоставени материали, Препоръчителен протокол, Интерпретация на оцветяването/очаквани резултати и Аналитични показатели. Актуализации съгласно текущия шаблон. Актуализирана фигура 1.

ИНТЕЛЕКТУАЛНА СОБСТВЕНОСТ

VENTANA, BENCHMARK и VENTANA HE са търговски марки на Roche. Всички останали продуктови названия и търговски марки са собственост на съответните им собственици
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

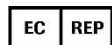
For USA: Rx only

ИНФОРМАЦИЯ ЗА КОНТАКТ



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

www.ventana.com



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

