

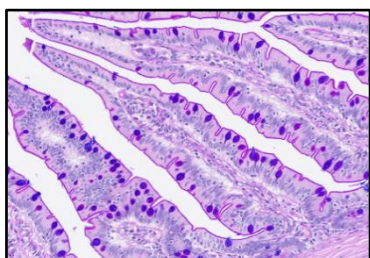
Alcian Blue for PAS

REF 860-003

05279194001

IVD

Σ 75



Figur 1. Alcian Blue for PAS-farging av tynntarm i kombinasjon med PAS Stain Core Kit.

TILTENKT BRUK

Alcian Blue for PAS, i kombinasjon med PAS Staining Kit ELLER PAS Stain Core Kit, er beregnet for laboratoriebruk som en kvalitativ histologifarge for å differensiere mellom sure og nøytrale muciner med lysmikroskop i formalinfikserte, parafinnstøpte (FFPE) vevsnett farget på et BenchMark Special Stains-instrument. Dette produktet skal tolkes av en kvalifisert patolog i sammenheng med en histologisk undersøkelse, relevant klinisk informasjon og egnede

kontroller.

Dette produktet er beregnet på in vitro-diagnostisk bruk (IVD).

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Alcian Blue for PAS er et sett med én enkelt flaske som brukes i kombinasjon med et VENTANA PAS-sett (PAS Stain Core Kit eller PAS Staining Kit). VENTANA PAS-settene er basert på den første histokjemiske bruken av denne teknikken som opprinnelig ble beskrevet av McManus i 1946 for å visualisere muciner, glykogen, basalmembran og sopporganismer gjennom kombinasjonen av oksidasjon av polysakkarider med perjodsyre og farging med Schiff-reagenset.¹

Muciner er en hovedkomponent i begerceller, intestinale, mukosale epitelceller, som har som funksjon å syntetisere og utskille slim.² Beggerceller finnes vanligvis i sekretoriske epitelceller i tynntarmen og tykktarmen og forekommer vanligvis ikke i spiserøret eller magen.³

Alcian Blue for PAS brukes for å bistå patologen ved identifiseringen av begerceller. Forekomst av begerceller i spiserøret og magen er unormalt, og fargen hjelper patologen med å diagnostisere intestinal metaplasia og Barretts øsofagus.

PROSEDYREPRINSIPP

VENTANA PAS-settene bruker Periodic Acid-reagens for å oksidere glykoler til aldehyder. Schiff's Reagent danner en fargeløs dialdehydforbindelse som transformeres til magenta-farging av glykolholdige cellulære komponenter.⁴ De kjemiske egenskapene til Alcian Blue gjør det mulig for fargestoffet å påvise svakt sure muciner i begerceller. Alcian Blue for PAS, med en pH på 2.5, farger sure mukopolysakkarider blå.⁵

Dette settet er optimalisert for bruk på BenchMark Special Stains-instrumenter. Reagensene påføres på vev på objektglass for mikroskop og blandes over hele prøven.

MEDFØLGENDE MATERIALER

Reagensbeholderen leveres i et strekkodemerket stativ som skal settes inn i reagensbrettet på instrumentet. Hvert kit inneholder tilstrekkelig reagens til 75 tester: Én 22 mL beholder med Alcian Blue inneholder ca. 1.2 % alcian-blått i en 3 % eddiksyreløsning.

Én beholderinnsats med sugerør.

Rekonstitusjon, blanding, fortynning, titrering

Ingen rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av kitreagenser er nødvendig. Videre fortynning av noen av reagensene kan føre til utilfredsstillende farging. Reagensene i dette kitet er optimalt fortynnet for bruk på BenchMark Special Stains-instrumenter.

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE MEDFØLGER

Ikke alle produkter som er oppgitt i metodearket, er tilgjengelige i alle markeder. Kontakt lokal brukerstøtte.

Følgende reagenser og materialer vil kunne være påkrevd til farging, men følger ikke med:

1. Anbefalt kontrollvev
2. Objektglass for mikroskop, positivt ladede
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. Et VENTANA PAS-sett
 - a. PAS Stain Core Kit (kat. nr. 860-048 / 09328823001) og Special Stains Hematoxylin (kat. nr. 860-071 / 09149457001)
 - b. PAS Staining Kit (kat. nr. 860-014 / 05279291001)
8. Laboratorieutstyr til generelle formål

OPPBEVARING OG STABILITET

Alcian Blue for PAS skal oppbevares ved 15–30 °C.

Når uåpnede og åpne reagenser oppbevares på riktig måte, er de stabile til datoen angitt på etiketten. Ikke bruk reagens etter utløpsdatoen som står angitt på kitet.

Det er ikke noen åpenbare tegn som vil kunne indikere ustabilitet i disse reagensene. Kontroller bør derfor kjøres samtidig med ukjente prøver. Kontakt lokal brukerstøtte hvis positivt kontrollmateriale viser en reduksjon i farging, siden det kan indikere reagensustabilitet.

KLARGJØRING AV PRØVEN

FFPE-vev er nødvendige for bruk med dette produktet og BenchMark Special Stains-instrumenter. Anbefalt vevsfiksativ er 10 % nøytralt bufret formalin.⁴

Utfør prøvetaking og -oppbevaring i samsvar med Histotechnology: A Self Instructional Text.⁴ Skjær snitt i riktig tykkelse, ca. 4 µm, og plasser snittene på positivt ladede objektglass.

1. Tørk objektglassene.⁴
2. Skriv ut egnede strekkodeetiketter.
3. Påfør strekkodeetiketter på den frostede enden av objektglassene før objektglassene lastes inn på instrumentet (se instrumentets brukerhåndbok for riktig påføring av etiketter).

Se avsnittet Bruksanvisning for den anbefalte protokollen for BenchMark Special Stains-instrumentet.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Til in vitro-diagnostisk bruk (IVD).
2. Kun til profesjonell bruk.
3. Skal ikke brukes utover det spesifiserte antallet tester.
4. Positivt ladede objektglass kan være følsomme for miljøpåvirkning, noe som kan føre til feilaktig farging. Be Roche-representanten om mer informasjon om hvordan du bruker disse objektglasstypene.
5. Materiale som stammer fra mennesker eller dyr, skal håndteres som smittefarlig biologisk materiale og kastes i henhold til korrekt prosedyre. Dersom en person har vært utsatt for slikt materiale, skal helsedirektivene fra myndighetene følges.^{6,7}
6. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne og slimhinner. Hvis reagenser kommer i kontakt med sensitive områder, må du skylle med rikelige mengder vann.
7. Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagenser, da det kan gi feil resultater.
8. Hvis du vil ha mer informasjon om bruken av denne enheten, kan du se brukerhåndboken for BenchMark Special Stains-instrumentet og bruksanvisningen for alle nødvendige komponenter som finnes på navifyportal.roche.com.
9. Rådfrø deg med lokale og/eller nasjonale myndigheter når det gjelder anbefalte metoder for avfallshåndtering.
10. Produktsikkerhetsmerking følger primært EU GHS-veiledningen. Sikkerhetsdataark er tilgjengelige for profesjonelle brukere på anmodning.
11. Hvis du trenger å rapportere mistenkte alvorlige hendelser knyttet til denne enheten, kontakter du den lokale Roche-representanten og ansvarlig myndighet i medlemslandet der brukeren holder til.

BRUKSANVISNING

Klargjør reagensglass

Før første gangs bruk må en beholderinnsats og et sugerør plasseres i reagensbeholderen.

Fjern transporthetten fra beholderen, og plasser innsatsen og sugerøret i beholderen. Innsatsen og sugerøret skal være igjen i beholderen straks beholderen er åpnet.

Fargingsprosedyre

1. Last reagenser og objektglass inn på instrumentet.
2. Plasser den myke hetten i spalten på reagensholderen når reagenset er i bruk.
3. Utfør fargekjøringen i samsvar med den anbefalte protokollen i Tabell 1 eller Tabell 2 og instruksjonene i brukerhåndboken.
4. Når kjøringen er fullført, må du fjerne objektglassene fra instrumentet.
5. Bruk den myke hetten til å dekke reagensbeholderen når reagenset ikke er i bruk.
6. Oppbevar reagensene etter bruk i samsvar med de anbefalte oppbevaringsvilkårene.

Anbefalt protokoll

Parameterne for de automatiserte prosedyrene kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til prosedyren i instrumentets brukerhåndbok.

Følgende prosedyrer muliggjør fleksibilitet og kan tilpasses brukernes preferanse. Dette produktet er optimalisert for bruk med BenchMark Special Stains-instrumenter, men brukeren må validere resultater oppnådd med dette produktet.

Tabell 1. Anbefalt fargeprotokoll for Alcian Blue for PAS med PAS Stain Core Kit og Special Stains Hematoxylin på et BenchMark Special Stains-instrument.

Fargingsprosedyre	S PAS Alcian Blue
Protokolltrinn	Metode
Avparafinisering	Velg for å automatisere parafinjerning
Baking (valgfritt)	Standard er ikke valgt. 75 °C i 4 minutter anbefales.
Diastase*	Ikke valgt. Dette alternativet må valideres av brukeren.
Optimize Alcian Blue Intensity (Alcian Blue)	Standard er 8 minutter ved 37 °C. Velg for å aktivere justering av inkubasjonstid og -temperatur. Velg en inkubasjonstemperatur mellom 37 og 60 °C: 37 °C, lysere farging av mucin 60 °C, mørkere farging av mucin Velg en inkubasjonstid mellom 8 og 16 minutter: 8 minutter, lysere farging av mucin 16 minutter, mørkere farging av mucin

Fargingsprosedyre	S PAS Alcian Blue
Protokolltrinn	Metode
Optimize PAS	Standard er Periodic Acid i 4 minutter, Schiff's A + Schiff's B i 12 minutter, ved 37 °C. Velg for å aktivere justering av inkubasjonstid og -temperatur. Velg en inkubasjonstemperatur mellom 37 og 60 °C: 37 °C, lysere farging av mucin 60 °C, mørkere farging av mucin Velg en inkubasjonstid for Periodic Acid fra 4 til 20 minutter: 4 minutter, lysere farging av mucin 20 minutter, mørkere farging av mucin Velg en inkubasjonstid for Schiff's A + Schiff's B fra 8 til 20 minutter: 8 minutter, lysere farging av mucin 20 minutter, mørkere farging av mucin
Optimize Hematoxylin Intensity	Standard er 4 minutter. Velg for å aktivere justering av inkubasjonstid: Ingen Hematoxylin 4 minutter, lysere kjernefarge 12 minutter, mørkere kjernefarge

* Ytterligere prosedyrealternativ er tilgjengelig for produkter som kan brukes i kombinasjon med PAS Stain Core Kit og Alcian Blue for PAS.

** Juster fargingspreferanser ved å endre fargetemperaturen og inkubasjonstiden én parameter om gangen.

Tabell 2. Anbefalt fargeprotokoll for Alcian Blue for PAS med PAS Staining Kit på et BenchMark Special Stains-instrument.

Fargingsprosedyre	S PAS
Protokolltrinn	Metode
Avparafinisering	Velg for å automatisere parafinjerning
Baking (valgfritt)	Standard er ikke valgt. 75 °C i 4 minutter anbefales.
Alcian Blue	Standard er ikke valgt. Velg for å aktivere alternativer for Alcian Blue og Alcian Blue for PAS.
Diastase for PAS AB* (valgfritt)	Ikke valgt. Dette alternativet må valideres av brukeren.
Optimize Stain Intensity (PAS Alcian Blue)	Standard er 8 minutter. Velg for å aktivere justering av fargingsintensitet.** Velg en inkubasjonstid mellom 8 og 16 minutter: 8 minutter, lysere farging av mucin 16 minutter, mørkere farging av mucin

Fargingsprosedyre	S PAS
Protokolltrinn	Metode
Hematoxylin for Alcian Blue (valgfritt)	Standard er ikke valgt. Velg for å aktivere påføring av Hematoxylin. Velg Optimize Hematoxylin Intensity for å aktivere justering av inkubasjonstid for Hematoxylin.
Optimize Hematoxylin Intensity (PAS Hematoxylin)	Standard er 4 minutter. Velg for å aktivere justering av inkubasjonstid: 4 minutter, lysere kjernefarge 12 minutter, mørkere kjernefarge

* Ytterligere prosedyrealternativ er tilgjengelig for produkter som kan brukes i kombinasjon med PAS Staining Kit og Alcian Blue for PAS.

** Juster fargingspreferanser ved å endre fargetemperaturen og inkubasjonstiden én parameter om gangen.

Anbefalt prosedyre etter instrumentprosessering

- Dehydrer objektglassene i to omganger med 95 % etanol for å fjerne gjenværende løsning, etterfulgt av tre omganger med 100 % etanol.
- Rens objektglass i 3 omganger med 100 % xylene.
- Dekkglass med permanent monteringsmedium.
- Kompatibel med VENTANA HE 600-systemets protokoll for påføring av dekkglass. Se brukerhåndboken for VENTANA HE 600-systemet for mer informasjon.

PROSEDYRE FOR KVALITETSKONTROLL

Et eksempel på et positivt kontrollmateriale er humant FFPE-vev med sure og nøytrale muciner (fra kolon, tynntarm eller spyttkjertler). Kontrollvev skal være prøver fra nylig foretatt obduksjon, biopsi eller operasjon som er klargjort eller fiksert så snart som mulig på samme måte som testsnittene. Slike vev bør overvåke alle trinn i analysen, fra vevsklargjøring til farging.

Bruk av et vevssnitt som er fiksert eller prosessert på en annen måte enn testprøven, gir kontroll for alle reagenser og metodetrinn bortsett fra fiksering og vevsprosessering.

Cellekomponentene i andre vevselementer kan fungere som negativ kontroll.

Optimal laboratoriepraksis er å inkludere et positivt kontrollsnitt på samme objektglass som testvevet. Dette hjelper til med å identifisere eventuelle feil ved bruk av reagenser på objektglasset. Kontrollvev kan inneholde både positive og negative fargingselementer og fungere som vev til både positiv og negativ kontroll.

Kontrollvevet må testes for hver kjøring.

Kjente positive vevskontroller bør kun benyttes for å overvåke korrekt ytelse for prosesserte vev og testreagenser, ikke som hjelpemiddel ved formulering av en spesifikk diagnostikk av pasientprøver.

Hvis de positive vevskomponentene ikke viser positiv farging, skal resultater med testprøvene anses som ugyldige. Hvis de negative komponentene viser positiv farging, bør resultater med pasientprøver også vurderes som ugyldige.

Uforklarlige avvik i kontrollresultater skal henvises til lokal brukerstøtte umiddelbart. Hvis kvalitetskontrollresultatene ikke oppfyller spesifikasjonene, er pasientresultatene ugyldige. Årsaken må identifiseres og korrigeres, og pasientprøvene må gjenstas.

FARGINGSTOLKNING / FORVENTEDE RESULTATER

Alcian Blue for PAS, i kombinasjon med PAS Stain Core Kit eller PAS Staining Kit, er testet for å vise sure og nøytrale muciner.

- Sure muciner: blå
- Nøytrale muciner: magenta
- Kjerner: lilla

SPESIFIKKE BEGRENSNINGER

Bare positivt ladede objektglass for mikroskop er brukt og validert for denne analysen.

YTELSESEGENSKAPER

ANALYTISK YTELSE

Det ble gjennomført fargingstester for sensitivitet, spesifisitet og presisjon, og resultatene er oppført nedenfor.

Sensitivitet og spesifisitet

Analytisk sensitivitet og spesifisitet for normale og syke vevstifeller ble evaluert i kombinasjon med PAS Stain Core Kit og PAS Staining Kit. Alle evaluerte vevstifeller (71/71 med PAS Stain Core Kit og 93/93 med PAS Staining Kit) fikk bestått for akseptabel farging slik det fremgår av Tabell 3 og Tabell 4.

Tabell 3. Sensitiviteten/spesifisiteten til Alcian Blue for PAS ble bestemt ved å teste følgende normale FFPE-vev.

Vev	PAS Stain Core Kit Antall tilfeller bestått / antall testet	PAS Staining Kit Antall tilfeller bestått / antall testet
Kolon	6/6	6/6
Tynntarm	10/10	9/9
Spiserør	6/6	7/7
Mage	6/6	9/9
Hud	6/6	15/15
Spyttkjertel	6/6	11/11

Tabell 4. Sensitiviteten/spesifisiteten til Alcian Blue for PAS ble bestemt ved å teste følgende syke FFPE-vev.

Vev	PAS Stain Core Kit Antall tilfeller bestått / antall testet	PAS Staining Kit Antall tilfeller bestått / antall testet
Barretts øsofagus	17/17	11/11
Intestinal metaplasia (spiserør)	7/7	16/16
Intestinal metaplasia (mage)	7/7	9/9

Presisjon

Presisjonen til Alcian Blue for PAS ble bestemt i kombinasjon med PAS Stain Core Kit og PAS Staining Kit over flere kjøring, dager, instrumenter og reagensloter med flere objektglass med snitt fra 3 normale tilfeller med kolonvev og 3 normale tilfeller med tynntarmvev. Alle akseptkriteriene ble fullt ut oppfylt. Presisjonsstudier ble utført i samsvar med Tabell 5.

Tabell 5. Presisjonsstudier med objektglass for Alcian Blue for PAS.

Testede parametere	Antall vilkår	PAS Stain Core Kit Antall tilfeller bestått / antall testet	PAS Staining Kit Antall tilfeller bestått / antall testet
Mellom kjøring	3 kjøring, samme dag	54/54	54/54
Mellom dager	5 dager	90/90	90/90
Mellom instrumenter	3 instrumenter	54/54	54/54
Innenfor kjøring	samme dag, samme instrument	54/54	54/54

Testede parametere	Antall vilkår	PAS Stain Core Kit Antall tilfeller bestått / antall testet	PAS Staining Kit Antall tilfeller bestått / antall testet
Lot til lot	3 loter	54/54	54/54

FEILSØKING

1. Snittykkelse kan påvirke kvalitet og fargingsintensitet. Hvis fargingen er uegnet, må du kontakte lokal brukerstøtte for å få hjelp.
2. Nekrotisk eller autolyseret vev kan vise ikke-spesifikk farging.
3. Hvis den positive kontrollen er negativ, kan vev ha blitt feil samlet inn, fiksert eller avparafinert. Riktig prosedyre må følges ved innsamling, oppbevaring og fiksering.
4. Hvis den positive kontrollen er negativ, skal det kontrolleres at objektglasset har riktig strekkodeetikett. Hvis objektglasset merkes på riktig måte, må du kontrollere de andre positive kontrollene fra samme kjøring for å avgjøre om kontrollene ble farget på riktig måte.
5. Hvis det forekommer for mye bakgrunnsfarging: Ufullstendig parafinjerning kan forårsake fargingsartefakter eller ingen farging. Hvis all parafin ikke fjernes fra objektglasset, må du gjenta fargekjøringen med det utvidede avparafiniseringsalternativet, hvis det er tilgjengelig.
6. Hvis vevssnitt vaskes av objektglasset, må du bekrefte at objektglassene er positivt ladet.
7. Hvis objektglassene blir værende for lenge på instrumentet etter endt kjøring, kan det påvirke fargingskvalitet og intensitet. Hvis fargingen er uegnet, må du fjerne objektglassene umiddelbart etter endt kjøring og fortsette med prosedyren etter instrumentprosessering.
8. Du finner korrigerende tiltak i avsnittet Bruksanvisning i instrumentets brukerhåndbok eller ved å kontakte lokal brukerstøtte.

REFERANSER

1. Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier, 2019. Accessed 02/15/2021.
2. Dao D, Le PH. Histology, Goblet Cells. In 04/09/2020 ed. Treasure Island, FL: StatPearls; 2020.
3. Pleskow D, Tolga E. Barrett's Esophagus: Emerging Evidence for Improved Clinical Practice. Elsevier Inc.; 2016.
4. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. 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.

MERK: Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Det brukes ikke skilletegn for tusener.

Symboler

Ventana bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er oppført i ISO 15223-1-standarden (for USA: se elabdoc.roche.com/symbols for mer informasjon).



Globalt artikkelnummer

Rx only

For USA: Forsiktig: Føderal lov begrenser denne enheten til å selges av eller på bestilling fra en lege.

REVISJONSHISTORIKK

Rev	Oppdateringer
H	Oppdatert for å legge til PAS Stain Core Kit i avsnittene Tiltenkt bruk, Sammendrag og forklaring, Prosedyreprinsipp, Materialer som er nødvendige, men som ikke medfølger, Anbefalt protokoll, Fargingstolkning / forventede resultater og Analytisk ytelse. Oppdatert til gjeldende mal. Oppdatert figur 1.

OPPHAVSRETT

VENTANA, BENCHMARK og VENTANA HE er varemerker for Roche. Alle andre produktnavn og varemerker tilhører sine respektive eiere.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTINFORMASJON



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

