

Alcian Blue Staining Kit

REF

860-002

05279186001

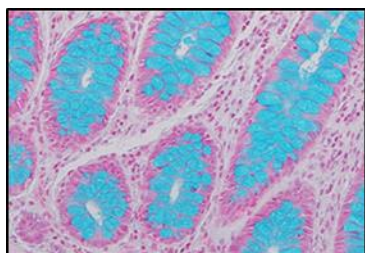
IVD
 75


Figura 1. Tinción del tejido de colon con Alcian Blue Staining Kit

USO PREVISTO

Alcian Blue Staining Kit está destinado a su uso en laboratorio como tinción histológica cualitativa para detectar la presencia de mucopolisacáridos poco ácidos mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) teñido con un instrumento BenchMark Special Stains.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo

cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este producto está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD)

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los mucopolisacáridos (mucinas) son un componente fundamental de las células caliciformes y las células epiteliales de la mucosa intestinal cuya función es sintetizar y segregar mucosas.¹ Las células caliciformes se suelen encontrar en el epitelio de los intestinos delgado y grueso y habitualmente no se encuentran presentes en el esófago ni en el estómago.²

Las propiedades químicas del Alcian Blue permiten al colorante detectar las mucinas poco ácidas en las células caliciformes. Los mucopolisacáridos de mucinas ácidas, que no neutras, se tiñen de color azul gracias al colorante con un pH de 2.5.^{3,4}

Alcian Blue Staining Kit sirve como ayuda para el anatomopatólogo en la identificación de las células caliciformes. La presencia de este tipo de células en el esófago y el estómago es anómala y la tinción ayuda al anatomopatólogo en el diagnóstico de una metaplasia intestinal y el síndrome de Barrett.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La reacción de tinción se basa en la reacción de Alcian Blue con un pH de 2.5 y los compuestos polianiónicos. Alcian Blue es un colorante polivalente, básico y soluble en agua cuyo color azul se deriva del grupo de ftalocianina de cobre, que se encuentra modificado por agentes solubilizantes catiónicos.^{3,5} Durante la reacción, se forman enlaces salinos entre Alcian Blue y los grupos ácidos de los mucopolisacáridos ácidos que se tiñen de azul. Para crear un contraste rosa en el fondo, se aplica Nuclear Fast Red Counterstain.

El kit se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark Special Stains. Los reactivos se aplican en el tejido en portaobjetos para microscopio y se mezclan con toda la muestra.

MATERIAL SUMINISTRADO

Los viales de reactivo se suministran en transportadores con etiquetas de código de barras para que puedan introducirse en la bandeja de reactivos del instrumento. Cada kit contiene reactivo suficiente para 75 pruebas.

Un vial de 22 mL de Alcian Blue contiene azul alcian al 1.2 % en una solución de ácido acético al 3 %.

Un vial de 22 mL de Nuclear Fast Red Counterstain contiene, aproximadamente, nuclear Fast Red al 0.2 % y sulfato de aluminio al 5 %.

Dos inserciones de viales con cañas de aspiración.

Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

No son necesarias la reconstitución, la mezcla, la dilución ni la titulación de los reactivos del kit. Una mayor dilución de cualquiera de los reactivos puede dar lugar a una tinción no satisfactoria.

Los reactivos del kit se han diluido de forma óptima para su uso con instrumentos BenchMark Special Stains.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Instrumento BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (n.º cat. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (n.º de cat. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (n.º de cat. 860-041 / 08309817001)
7. Equipo de laboratorio de uso general

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Alcian Blue Staining Kit debe conservarse a una temperatura de entre 15 y 30 °C.

Si se almacenan correctamente, los reactivos se mantendrán estables hasta la fecha indicada en la etiqueta, ya se encuentren abiertos o cerrados.

No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad que se indica en el kit.

No existen indicios absolutamente precisos de la inestabilidad de estos reactivos, por tanto, es necesario analizar simultáneamente los controles con las muestras desconocidas. Póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche si el material de control positivo presenta una reducción de la tinción, dado que podría indicar la inestabilidad del reactivo.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual son necesarios para el uso de este producto y de los instrumentos BenchMark Special Stains. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %⁶.

Lleve a cabo la extracción de las muestras y su conservación conforme a las instrucciones que recoge: «Histotechnology: A Self Instructional Text».⁶ Corte las secciones con el grosor adecuado, de aproximadamente 4 µm, y colóquelas en portaobjetos de vidrio cargados positivamente.

1. Seque los portaobjetos.⁶
2. Imprima las etiquetas con código de barras correspondientes.
3. Coloque las etiquetas de código de barras en el extremo congelado de los portaobjetos antes de cargarlos en el instrumento (consulte el Manual del usuario del instrumento para obtener información sobre la correcta aplicación de las etiquetas).

Consulte la sección Instrucciones de uso para obtener información sobre el protocolo recomendado para el instrumento BenchMark Special Stains.


ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only).
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
6. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{7,8}

7. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
8. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
9. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark Special Stains y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en navifyportal.roche.com.
10. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
11. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
12. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H290	Puede ser corrosivo para los metales.
	H318	Provoca daños graves en los ojos.
	P234	Consérvelo en su embalaje original.
	P280	Lleve protección ocular y para el rostro.
	P305+ P351+ P338+ P310	SI ENTRA EN CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague los ojos con agua cuidadosamente durante unos minutos. Qúitese las lentillas, si las lleva y puede hacerlo con facilidad. Siga aclarando la zona. Consulte inmediatamente a un médico o a un centro de toxicología.
	P390	Recoja el vertido para evitar que se dañe el material.

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación del vial de reactivo

Antes de utilizarlo por primera vez, es necesario colocar una inserción de vial y la caña de aspiración en el vial del reactivo.

Quite el tapón con el que se suministra el vial y coloque en el vial la inserción y la caña. La inserción y la caña de aspiración deben permanecer en el vial una vez que esté abierto.

Procedimiento de tinción

1. Cargue los reactivos y los portaobjetos en el instrumento.
2. Coloque el tapón blando en la ranura del soporte de reactivo cuando se esté utilizando el reactivo.
3. Lleve a cabo la sesión de tinción según el protocolo recomendado en la Tabla 2 y las instrucciones que recoge el Manual del usuario.
4. Cuando haya finalizado la sesión, retire los portaobjetos del instrumento.
5. Cubra el vial de reactivo con el tapón blando cuando no se utilice.
6. Una vez usados, almacene los reactivos tal y como se recomienda en las condiciones de almacenamiento recomendadas.

Protocolo recomendado

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos.

Los siguientes procedimientos son flexibles para adaptarse a las preferencias del usuario. Este producto se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark Special Stains, pero es necesario que el usuario valide los resultados que obtenga con ellos.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para Alcian Blue Staining Kit en un instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimiento de tinción	S Alcian Blue Staining Kit
Paso del protocolo	Método
Desparafinado	Seleccionar para automatizar la eliminación de la parafina.
Horneado (opcional)	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Se recomienda una temperatura de 75 °C durante 4 minutos.
Optimización de la intensidad de la tinción (Alcian Blue)	El tiempo predeterminado es de 8 minutos. Seleccione esta opción para permitir el ajuste de la intensidad de la tinción: * Seleccione un tiempo de incubación de entre 4 y 20 minutos: 4 minutos, tinción más clara de la mucina 20 minutos, tinción más oscura de la mucina
Optimización de la intensidad de la contratinción (Alcian Blue NFR)	El tiempo predeterminado es de 4 minutos. Seleccione esta opción para permitir el ajuste de la intensidad de contratinción: * Seleccione un tiempo de incubación de entre 4 y 16 minutos: 4 minutos, contratinción más clara 16 minutos, contratinción más oscura

* Para ajustar las preferencias de la tinción, aumente los parámetros de temperatura de la tinción y de tiempo de incubación de uno en uno.

Procesamiento post-instrumento recomendado

1. Deshidrate los portaobjetos en dos cambios de etanol al 95 % para eliminar los restos de solución y, a continuación, en otros tres cambios de etanol al 100 %.
2. Aclare los portaobjetos en tres cambios de xileno al 100 %.
3. Aplique un cubreobjetos con medio de montaje permanente.

Compatible con el protocolo de montador mediante el sistema VENTANA HE 600. Si desea obtener instrucciones más detalladas al respecto, consulte el Manual del usuario del sistema VENTANA HE 600.

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Como ejemplo de material de control positivo se encuentra el tejido humano FFPE con presencia de mucinas ácidas o mucopolisacáridos ácidos, como el tejido de colon o de intestino delgado. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía, preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba. Estos tejidos se utilizan para hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el análisis, desde la preparación del tejido hasta la tinción.

El uso de una sección de tejido fijada o procesada de forma diferente a la muestra de la prueba actúa como control en todos los pasos de reactivo y del método, salvo en los de fijación y procesamiento de tejidos. Los componentes celulares de otros elementos del tejido pueden servir como control negativo.

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo.

El tejido de control se debe analizar en cada una de las sesiones.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para hacer un seguimiento del comportamiento correcto de los reactivos de la prueba y de los tejidos procesados, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente.

Si los componentes de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos. Si los componentes de tejido

negativos muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras del paciente también se deben considerar no válidos.

Las discrepancias no explicadas en los resultados de los controles deberían comunicarse al representante local de asistencia técnica de Roche de forma inmediata. Si los resultados de los controles de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no serán válidos. Es necesario identificar la causa y corregir el problema, así como repetir el análisis de las muestras del paciente.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

Alcian Blue Staining Kit se ha analizado durante su fabricación para que se presenten mucopolisacáridos poco ácidos.

Mucopolisacáridos poro ácidos (mucinas): Azul brillante

Núcleos: De rosa a rojo

Citoplasma: Rosa

Se ha observado una tinción azul en las células no calciformes.

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

Únicamente se han utilizado y validado en este ensayo los portaobjetos para microscopio con carga positiva.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se realizaron pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad y precisión y los resultados se indican a continuación.

Sensibilidad y especificidad

Se evaluaron la sensibilidad y especificidad analíticas de tejidos gastrointestinales normales y afectados por enfermedad. En sesenta y uno de los 62 casos de tejido evaluados (98.4 %) se obtuvo un resultado apto de tinción aceptable, tal y como se muestra en la Tabla 3 y en la Tabla 4.

Tabla 3. La sensibilidad y especificidad de Alcian Blue Staining Kit se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE normales.

Tejido	N.º de casos aptos/analizados
Esófago	7 / 7
Estómago	10 * / 11
Intestino delgado	9 / 9
Colon	5 / 5

* En uno de los casos, se observó una cantidad excesiva de la tinción azul en células no calciformes

Tabla 4. La sensibilidad y especificidad de Alcian Blue Staining Kit se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE afectados por una enfermedad.

Tejido	N.º de casos aptos/analizados
Metaplasia intestinal (estómago)	8 / 8
Metaplasia intestinal (esófago)	8 / 8
Síndrome de Barrett	14 / 14

Precisión

La precisión de Alcian Blue Staining Kit se determinó en diferentes sesiones, días, instrumentos y lotes de reactivo con varios portaobjetos de cortes de tres casos de tejido de colon normal y tres casos de tejido de intestino delgado normal. Se cumplieron todos los criterios de aceptación. Los estudios de precisión se llevaron a cabo con Alcian Blue Staining Kit según la información que se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Estudios de precisión de portaobjetos con Alcian Blue Staining Kit.

Parámetros analizados	N.º de condiciones	N.º de portaobjetos aptos/analizados
Entre sesiones	Tres sesiones en un mismo día	54 / 54
Entre días	5 días	90 / 90
Entre instrumentos	Tres instrumentos	54 / 54
En la misma sesión	mismo día y mismo instrumento	54 / 54
Entre lotes	Tres lotes	54 / 54

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. El grosor del corte puede afectar la calidad y la intensidad de la tinción. Si la tinción no es adecuada, póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche para obtener ayuda.
2. El tejido necrótico o autolizado puede presentar tinción no específica.
3. Si el control positivo es negativo, es posible que los tejidos se hayan recogido, fijado o desparafinado de forma incorrecta. Siga el procedimiento apropiado para llevar a cabo la recogida, el almacenamiento y la fijación.
4. Si el control positivo es negativo, asegúrese de que el portaobjetos lleva la etiqueta de código de barras correcta. Si el etiquetado del portaobjetos es correcto, compruebe el resto de los controles positivos de la misma sesión para saber si se han teñido los controles adecuadamente.
5. Si se presenta una tinción de fondo excesiva: una eliminación incompleta de la parafina puede provocar la aparición de artefactos en la tinción o la ausencia de esta. Si no se ha eliminado toda la parafina del portaobjetos, la sesión de tinción debería repetirse con una opción de desparafinado más prolongada, si fuera posible.
6. Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, compruebe que los portaobjetos tienen carga positiva.
7. Una conservación prolongada de los portaobjetos en el instrumento una vez que haya finalizado la sesión puede influir en la calidad y la intensidad de la tinción. Si la tinción no es adecuada, retire los portaobjetos de inmediato al finalizar la sesión y continúe con el procesamiento post-instrumento.
8. Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Instrucciones de uso, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.

REFERENCIAS

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.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte elabdoc.roche.com/symbols para obtener más información):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
L	Se han actualizado las secciones Advertencias y precauciones, Referencias y Símbolos.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

www.roche.com



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

