

## Alcian Blue for PAS

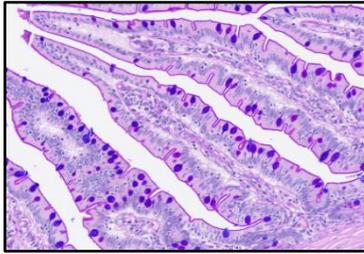
REF

860-003

05279194001

IVD

Σ 75



**Figura 1. Tinción del tejido de intestino delgado con Alcian Blue for PAS junto con PAS Stain Core Kit.**

### USO PREVISTO

Alcian Blue for PAS, junto con PAS Staining Kit o PAS Stain Core Kit, está destinado a su uso en laboratorio como tinción histológica cualitativa para diferenciar las mucinas ácidas de las neutras mediante microscopía óptica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) 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

Alcian Blue for PAS es un kit de una sola botella que se emplea junto con un kit PAS VENTANA (PAS Stain Core Kit o PAS Staining Kit). Los kit PAS de VENTANA se basan en el primer uso histoquímico de este método descrito en su origen por McManus en 1946 para visualizar las mucinas, los glicógenos, la membrana basal y los organismos fúngicos a través de la combinación de la oxidación de los polisacáridos mediante ácido peryódico y la tinción con el reactivo de Schiff.<sup>1</sup>

Las mucinas son un componente fundamental de las células caliciformes y las células epiteliales de la mucosa intestinal cuya función es sintetizar y segregar mucosas.<sup>2</sup> Las células caliciformes se suelen encontrar en las células epiteliales secretoras de los intestinos delgado y grueso y habitualmente se encuentran ausentes en el esófago ni en el estómago.<sup>3</sup>

Alcian Blue for PAS 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

Los kit PAS de VENTANA oxidan los glicoles y los aldehídos mediante el reactivo Periodic Acid. El reactivo Schiff forma un compuesto dialdehído sin color que se transforma en una tinción magenta de los componentes celulares que contienen glicol.<sup>4</sup> Las propiedades químicas de Alcian Blue permiten al colorante detectar las mucinas poco ácidas en las células caliciformes. Alcian Blue for PAS, con un pH de 2.5, tiñe los ácidos mucopolisacáridos de azul.<sup>5</sup>

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

El vial de reactivo se suministra en un transportador con etiqueta de código de barras para que pueda 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, aproximadamente, azul alcian al 1.2 % en una solución de ácido acético al 3 %.

Una inserción de vial con caña de aspiración.

### Reconstitución, mezcla, dilución, 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

Puede que no todos los productos que aparecen en la hoja de datos estén 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 de 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. Un kit PAS de VENTANA
  - a. PAS Stain Core Kit (n.º cat. 860-048 / 09328823001) y Special Stains Hematoxylin (n.º cat. 860-071 / 09149457001)
  - b. PAS Staining Kit (n.º cat. 860-014 / 05279291001)
8. Equipo de laboratorio de uso general

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Alcian Blue for PAS 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

Es necesario contar con tejidos FFPE para su uso con este producto y los instrumentos BenchMark Special Stains. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.<sup>4</sup>

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

1. Seque los portaobjetos.<sup>4</sup>
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. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
4. 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.
5. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.<sup>6,7</sup>

6. 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.
7. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
8. 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](http://navifyportal.roche.com).
9. Consultar a las autoridades locales y/o estatales sobre el método de eliminación recomendado.
10. 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.
11. 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.

### 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 los protocolos recomendados en la Tabla 1 o 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 visualizar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario del instrumento.

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 1.** Protocolo de tinción recomendado para Alcian Blue for PAS con PAS Stain Core Kit y Special Stains Hematoxylin en un instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimiento de tinción	S PAS Alcian Blue
Paso del protocolo	Método
<b>Desparafinado</b>	Seleccionar para automatizar la eliminación de la parafina
<b>Horneado (opcional)</b>	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Se recomienda una temperatura de 75 °C durante 4 minutos.
<b>Diastase*</b>	No seleccionado. El usuario debe validar esta opción.

Procedimiento de tinción	S PAS Alcian Blue
Paso del protocolo	Método
<b>Optimize Alcian Blue Intensity (Alcian Blue)</b>	El tiempo predeterminado es de 8 minutos a 37 °C.  Seleccione para permitir el ajuste del tiempo y la temperatura de incubación.  Seleccione una temperatura de incubación de entre 37 y 60 °C: 37 °C, tinción más clara de la mucina 60 °C, tinción más oscura de la mucina  Seleccione un tiempo de incubación de entre 8 y 16 minutos: 8 minutos, tinción más clara de la mucina 16 minutos, tinción más oscura de la mucina
<b>Optimize PAS</b>	El ajuste predeterminado es Periodic Acid durante 4 minutos y Schiff's A + Schiff's B durante 12 minutos a 37 °C.  Seleccione para permitir el ajuste del tiempo y la temperatura de incubación.  Seleccione una temperatura de incubación de entre 37 y 60 °C: 37 °C, tinción más clara de la mucina 60 °C, tinción más oscura de la mucina  Seleccione un tiempo de incubación de Periodic Acid de entre 4 y 20 minutos: 4 minutos, tinción más clara de la mucina 20 minutos, tinción más oscura de la mucina  Seleccione un tiempo de incubación de Schiff's A + Schiff's B de entre 8 y 20 minutos: 8 minutos, tinción más clara de la mucina 20 minutos, tinción más oscura de la mucina
<b>Optimize Hematoxylin Intensity</b>	El tiempo predeterminado es de 4 minutos.  Seleccione para permitir el ajuste del tiempo de incubación: Sin Hematoxylin 4 minutos, tinción nuclear más clara 12 minutos, tinción nuclear más oscura

\* Está disponible una opción de procedimiento adicional para aquellos productos que se pueden emplear junto con PAS Stain Core Kit y Alcian Blue for PAS.

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

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

Procedimiento de tinción	S PAS
Paso del protocolo	Método
<b>Desparafinado</b>	Seleccionar para automatizar la eliminación de la parafina

Procedimiento de tinción	S PAS
Paso del protocolo	Método
<b>Horneado (opcional)</b>	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Se recomienda una temperatura de 75 °C durante 4 minutos.
<b>Alcian Blue</b>	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Seleccionar para permitir las opciones Alcian Blue y Alcian Blue for PAS.
<b>Diastase for PAS AB* (opcional)</b>	No seleccionado. El usuario debe validar esta opción.
<b>Optimize Stain Intensity (PAS Alcian Blue)</b>	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 8 y 16 minutos: 8 minutos, tinción más clara de la mucina 16 minutos, tinción más oscura de la mucina
<b>Hematoxylin for Alcian Blue (opcional)</b>	En los valores predeterminados no se encuentra seleccionado. Seleccione esta opción para permitir la aplicación de Hematoxylin. Seleccione Optimize Hematoxylin Intensity para permitir el ajuste del tiempo de incubación de Hematoxylin.
<b>Optimize Hematoxylin Intensity (PAS Hematoxylin)</b>	El tiempo predeterminado es de 4 minutos.  Seleccione para permitir el ajuste del tiempo de incubación: 4 minutos, tinción nuclear más clara 12 minutos, tinción nuclear más oscura

\* Está disponible una opción de procedimiento adicional para aquellos productos que se pueden emplear junto con PAS Staining Kit y Alcian Blue for PAS.

\*\* 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.
4. 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 y neutras, como el tejido de colon, de intestino delgado o de glándulas salivales. 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 deben utilizarse para hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el proceso, 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

Se analizó Alcian Blue for PAS, junto con PAS Stain Core Kit o PAS Staining Kit, para detectar la presencia de mucinas ácidas y neutras.

- Mucinas ácidas: azul
- Mucinas neutras: magenta
- Núcleos: morado

### 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 casos de tejidos normales y afectados por enfermedad junto con PAS Stain Core Kit y PAS Staining Kit. En todos los casos de tejido evaluados (71/71 con PAS Stain Core Kit y 93/93 con PAS Staining Kit) 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 for PAS se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE normales.

Tejido	PAS Stain Core Kit N.º de casos aptos/analizados	PAS Staining Kit N.º de casos aptos/analizados
Colon	6/6	6/6
Intestino delgado	10/10	9/9
Esófago	6/6	7/7
Estómago	6/6	9/9
Piel	6/6	15/15
Glándula salival	6/6	11/11

**Tabla 4.** La sensibilidad y especificidad de Alcian Blue for PAS se determinó mediante el análisis de los siguientes tejidos FFPE afectados por enfermedad.

Tejido	PAS Stain Core Kit N.º de casos aptos/analizados	PAS Staining Kit N.º de casos aptos/analizados
Síndrome de Barrett	17/17	11/11

Tejido	PAS Stain Core Kit N.º de casos aptos/analizados	PAS Staining Kit N.º de casos aptos/analizados
Metaplasia intestinal (esófago)	7/7	16/16
Metaplasia intestinal (estómago)	7/7	9/9

**Precisión**

La precisión de Alcian Blue for PAS junto con PAS Stain Core Kit y PAS 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. Todos los criterios de aceptación se cumplieron al completo. Los estudios de precisión se llevaron a cabo según la información que aparece en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Estudios de precisión de portaobjetos con Alcian Blue for PAS.

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

**RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS**

- 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.
- El tejido necrótico o autolizado puede presentar tinción no específica.
- 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.
- 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.
- 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.
- Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, compruebe que los portaobjetos tienen carga positiva.
- 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.
- 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**

- 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.

**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.

**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](http://elabdoc.roche.com/symbols) para obtener más información):



Número de artículo de Global Trade

Rx only

Para EE. UU.: Precaución: Las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos.

**HISTORIAL DE REVISIONES**

Rev	Actualizaciones
H	Se han actualizado las secciones Uso previsto, Resumen y explicación, Principio del procedimiento, Materiales necesarios pero no suministrados, Protocolo recomendado, Interpretación de las tinciones y resultados previstos y Rendimiento de análisis para añadir PAS Stain Core Kit. Actualización a la plantilla actual. Se ha actualizado la figura 1.

**PROPIEDAD INTELECTUAL**

VENTANA, BENCHMARK y VENTANA HE son marcas comerciales de Roche. Todos los demás nombres de productos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**



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](http://www.roche.com)



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

