

Alcian Blue for PAS

REF

860-003

05279194001

IVD

Σ 75

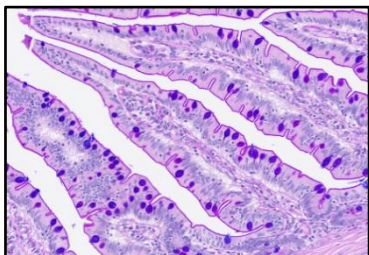


Fig. 1. Colorarea cu Alcian Blue for PAS a intestinului subțire împreună cu PAS Stain Core Kit.

DOMENIU DE UTILIZARE

Alcian Blue for PAS, împreună cu PAS Staining Kit sau PAS Stain Core Kit, este destinat utilizării în laborator drept colorație histologică calitativă pentru a diferenția între mucinele acide și neutre prin microscopia în câmp luminos în secțiunile de țesut fixat în formalină, înglobat în parafină (FFPE) pe un instrument BenchMark Special Stains.

Acest produs trebuie interpretat de un patolog calificat împreună cu examinarea histologică, informațiile clinice relevante și controalele

adecvate.

Acest produs este destinat pentru diagnosticarea in vitro (IVD).

REZUMAT ȘI EXPLICAȚIE

Alcian Blue for PAS este un kit cu un singur flacon, care se utilizează împreună cu un kit VENTANA PAS (PAS Stain Core Kit sau PAS Staining Kit). Kiturile VENTANA PAS se bazează pe prima utilizare histochemică a acestei tehnici, descrise inițial de McManus în 1946 pentru vizualizarea mucinelor, glicogenului, membranei bazale și a organismelor fungice prin combinația dintre oxidarea polizaharidelor cu ajutorul acidului periodic și colorarea cu reactiv Schiff.¹

Mucinele sunt o componentă cheie a celulelor caliciforme, a celulelor epiteliale mucozale intestinale, a căror funcție este de a sintetiza și secreta mucozități.² În mod normal, celulele caliciforme se găsesc în celulele epiteliale secretoare ale intestinului subțire și ale celui gros, lipsind, în general, din esofag sau stomac.³

Alcian Blue for PAS este utilizat pentru a ajuta patalogul la identificarea celulelor caliciforme. Prezența celulelor caliciforme în esofag și stomac este anormală, iar colorația ajută patalogul în diagnosticarea metaplaziei intestinale și a esofagului Barrett.

PRINCIPIUL PROCEDURII

Kiturile VENTANA PAS utilizează reactivul Periodic Acid pentru oxidarea glicolilor în aldehide. Reactivul Schiff formează un compus de dialdehide incolor, care este transformat în colorația magenta a componentelor celulare care conțin glicol.⁴ Proprietățile chimice ale Alcian Blue permit colorantului să detecteze mucinele slab acide din celulele caliciforme. Alcian Blue for PAS, cu un pH de 2.5, colorează cu albastru mucopolizaharidele acide.⁵

Acest kit este optimizat pentru utilizarea pe instrumente BenchMark Special Stains. Reactivii se aplică pe țesutul de pe lamele de microscop și se amestecă cu întreaga probă.

MATERIALE FURNIZATE

Fiola de reactiv este furnizată într-un transportator etichetat cu coduri de bare pentru introducerea în tava pentru reactiv a instrumentului. Fiecare kit conține reactiv suficient pentru 75 de teste:

O fiolă de 22 mL de Alcian Blue conține aproximativ 1.2% albastru alcian într-o soluție de 3% acid acetic.

O inserție pentru fiole cu tub de imersie.

Reconstituirea, amestecarea, diluarea și titrarea

Nu este necesară reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea reactivilor din kit. Diluarea suplimentară a oricăruia dintre reactivi poate genera o colorare nesatisfăcătoare.

Reactivii din acest kit au fost diluați în mod optim pentru utilizare pe instrumentele BenchMark Special Stains.

MATERIALE NECESARE, DAR CARE NU SUNT FURNIZATE

Este posibil să nu fie disponibile în toate zonele geografice toate produsele menționate în fișa de descriere a metodei. Consultați reprezentantul de asistență local.

Reactivii și materialele de mai jos pot fi necesari pentru colorare, dar nu sunt furnizați:

1. Țesutul de control recomandat
2. Lame de microscop, încărcate pozitiv
3. Instrumentul BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (nr. cat. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (nr. cat. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (nr. cat. 860-041 / 08309817001)
7. Un kit VENTANA PAS
 - a. PAS Stain Core Kit (nr. cat. 860-048 / 09328823001) și Special Stains Hematoxylin (nr. cat. 860-071 / 09149457001)
 - b. PAS Staining Kit (nr. cat. 860-014 / 05279291001)
8. Echipament de laborator de uz general

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Alcian Blue for PAS trebuie depozitat la 15–30 °C.

Dacă sunt stocați în mod adecvat, reactivii nedeschși și cei deschiși sunt stabili până la data indicată pe etichetă. Nu utilizați reactivul după data expirării indicată pe kit.

Nu există semne evidente care să indice instabilitatea acestor reactivi; prin urmare, controalele trebuie testate simultan cu probele necunoscute. Contactați reprezentantul de asistență local dacă materialul controlului pozitiv prezintă o scădere a colorației, deoarece aceasta poate indica instabilitatea reactivului.

PREGĂTIREA PROBELOR

Țesuturile FFPE sunt necesare pentru utilizarea cu acest produs și instrumentele BenchMark Special Stains. Fixatorul de țesut recomandat este formalina neutră tamponată 10%.⁴

Efectuați prelevarea și depozitarea probelor în conformitate cu Histotechnology: A Self Instructional Text.⁴ Taiati secțiunile la grosimea adecvată, de aproximativ 4 μm, și plasați secțiunile pe lame din sticlă încărcate pozitiv.

1. Uscați lamele.⁴
2. Tipăriți etichetele cu coduri de bare corespunzătoare.
3. Aplicați etichetele cu coduri de bare pe capătul înghețat al lamelor înainte de a încărca lamele pe instrument (consultați ghidul de utilizare aferent instrumentului pentru metoda corectă de aplicare a etichetelor).

Consultați secțiunea Instrucțiuni de utilizare pentru protocolul recomandat pentru instrumentul BenchMark Special Stains.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Pentru diagnosticarea in vitro (IVD).
2. Doar pentru uz profesional.
3. A nu se depăși numărul de teste specificat.
4. Lamele încărcate pozitiv pot fi susceptibile la factori de mediu care duc la colorarea inadecvată. Cereți reprezentantului dvs. Roche mai multe informații privind modul de utilizare a acestor tipuri de lame.
5. Materialele de origine umană sau animală trebuie considerate materiale care prezintă pericol biologic și eliminate cu măsurile de precauție adecvate. În cazul expunerii, trebuie respectate instrucțiunile de sănătate comunicate de autoritățile responsabile.^{6,7}
6. Evitați contactul reactivului cu ochii și membranele mucoase. Dacă reactivii intră în contact cu zonele sensibile, spălați-le cu apă din abundență.
7. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor, deoarece aceasta poate duce la obținerea unor rezultate incorecte.
8. Pentru mai multe informații privind utilizarea acestui dispozitiv, consultați ghidul de utilizare a instrumentului BenchMark Special Stains și instrucțiunile de utilizare a tuturor componentelor necesare de la navifyportal.roche.com.
9. Consultați autoritățile locale și/sau de stat cu privire la metoda de eliminare recomandată.

10. Etichetarea de securitate a produsului respectă în principal instrucțiunile GHS din UE. Fișa cu date de securitate este disponibilă utilizatorilor profesioniști la cerere.
11. Pentru a raporta suspiciunile privind incidentele grave referitoare la acest dispozitiv, contactați reprezentantul local Roche și autoritatea competentă a Statului Membru sau a Țării în care este stabilit utilizatorul.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Prepararea fiolei de reactiv

Înainte de prima utilizare, în fiola de reactiv trebuie plasate o inserție de fiolă și un tub de imersie.

Îndepărtați capacul de transport de pe fiolă și plasați inserția și tubul în fiolă. Odată ce fiola a fost deschisă, inserția și tubul de imersie trebuie lăsate în fiolă.

Procedura de colorare

1. Încărcați reactivii și lamele pe instrument.
2. Plasați capacul moale în slotul de pe suportul de reactivi atunci când reactivul este în curs de utilizare.
3. Efectuați ciclul de colorare în conformitate cu protocolul recomandat în Tab. 1 sau Tab. 2 și instrucțiunile din Ghidul de utilizare.
4. La sfârșitul testării, îndepărtați lamele de pe instrument.
5. Utilizați capacul moale pentru a închide fiola de reactiv atunci când reactivul nu este în curs de utilizare.
6. După utilizare, depozitați reactivii în conformitate cu condițiile de depozitare recomandate.

Protocol recomandat

Parametrii pentru procedurile automate pot fi afișați, tipăriți și editați conform procedurii din ghidul de utilizare a instrumentului.

Următoarele proceduri permit flexibilitatea de adaptare la preferințele utilizatorului. Acest produs a fost optimizat pentru utilizarea cu instrumentele BenchMark Special Stains, dar utilizatorul trebuie să valideze rezultatele obținute cu acest produs.

Tab. 1. Protocolul de colorare recomandat pentru Alcian Blue for PAS cu PAS Stain Core Kit și Special Stains Hematoxylin pe un instrument BenchMark Special Stains.

Procedura de colorare	S PAS Alcian Blue
Etapă de protocol	Metodă
Deparafinare	Selectați pentru îndepărtarea automată a parafinei.
Coacere (opțional)	Opțiunea implicită nu este selectată. Se recomandă coacerea la 75 °C timp de 4 minute.
Diastase*	Neselectat. Această opțiune trebuie să fie validată de utilizator.
Optimize Alcian Blue Intensity (Alcian Blue)	Timpul implicit este de 8 minute la 37 °C. Selectați pentru a permite ajustarea timpului de incubare și a temperaturii. Selectați o temperatură de incubare în intervalul de la 37 °C până la 60 °C: 37 °C, colorație mai deschisă a mucinei 60 °C, colorație mai închisă a mucinei Selectați un timp de incubare cuprins între 8 și 16 minute: 8 minute, colorație mai deschisă a mucinei 16 minute, colorație mai închisă a mucinei

Procedura de colorare	S PAS Alcian Blue
Etapă de protocol	Metodă
Optimize PAS	Opțiunea implicită este Periodic Acid timp de 4 minute, Schiff's A + Schiff's B timp de 12 minute, la 37 °C. Selectați pentru a permite ajustarea timpului de incubare și a temperaturii. Selectați o temperatură de incubare în intervalul de la 37 °C până la 60 °C: 37 °C, colorație mai deschisă a mucinei 60 °C, colorație mai închisă a mucinei Selectați un timp de incubare pentru Periodic Acid cuprins între 4 și 20 minute: 4 minute, colorație mai deschisă a mucinei 20 minute, colorație mai închisă a mucinei Selectați un timp de incubare Schiff's A + Schiff's B cuprins între 8 și 20 minute: 8 minute, colorație mai deschisă a mucinei 20 minute, colorație mai închisă a mucinei
Optimize Hematoxylin Intensity	Timpul implicit este de 4 minute. Selectați pentru a permite ajustarea timpului de incubare: Fără Hematoxylin 4 minute, colorație nucleară mai deschisă 12 minute, colorare nucleară mai închisă

* Sunt disponibile opțiuni de procedură suplimentare pentru produsele care pot fi utilizate împreună cu PAS Stain Core Kit și Alcian Blue for PAS.

** Pentru a ajusta preferințele privind colorația, creșteți temperatura de colorare și timpul de incubare cu câte un parametru odată.

Tab. 2. Protocolul de colorare recomandat pentru Alcian Blue for PAS împreună cu PAS Staining Kit pe un instrument BenchMark Special Stains.

Procedura de colorare	S PAS
Etapă de protocol	Metodă
Deparafinare	Selectați pentru îndepărtarea automată a parafinei.
Coacere (opțional)	Opțiunea implicită nu este selectată. Se recomandă coacerea la 75 °C timp de 4 minute.
Alcian Blue	Opțiunea implicită nu este selectată. Selectați pentru a permite opțiunile Alcian Blue și Alcian Blue for PAS.
Diastase for PAS AB* (opțional)	Neselectat. Această opțiune trebuie să fie validată de utilizator.

Procedura de colorare	S PAS
Etapă de protocol	Metodă
Optimize Stain Intensity (PAS Alcian Blue)	Timpul implicit este de 8 minute. Selectați pentru a permite ajustarea intensității colorației.** Selectați un timp de incubare cuprins între 8 și 16 minute: 8 minute, colorație mai deschisă a mucinei 16 minute, colorație mai închisă a mucinei
Hematoxylin for Alcian Blue (opțional)	Opțiunea implicită nu este selectată. Selectați pentru a permite aplicarea de Hematoxylin. Selectați Optimize Hematoxylin Intensity pentru a permite ajustarea timpului de incubare pentru Hematoxylin.
Optimize Hematoxylin Intensity (PAS Hematoxylin)	Timpul implicit este de 4 minute. Selectați pentru a permite ajustarea timpului de incubare: 4 minute, colorație nucleară mai deschisă 12 minute, colorare nucleară mai închisă

*Sunt disponibile opțiuni de procedură suplimentare pentru produsele care pot fi utilizate împreună cu PAS Staining Kit și Alcian Blue for PAS.

** Pentru a ajusta preferințele privind colorația, creșteți temperatura de colorare și timpul de incubare cu câte un parametru odată.

Post-prelucrare recomandată a instrumentului

1. Deshidratați lamele în două schimburi de etanol 95% pentru a îndepărta reziduurile de soluție, urmate de trei schimburi de etanol 100%.
2. Curățați lamele în 3 schimburi de xilen 100%.
3. Aplicați lamelele de acoperire cu mediu de fixare permanent.
4. Compatibil cu protocolul de aplicare a lamelor de acoperire aferent sistemului VENTANA HE 600. Pentru mai multe instrucțiuni, consultați Ghidul de utilizare a sistemului VENTANA HE 600.

PROCEDURI DE CONTROL DE CALITATE

Un exemplu de material de control pozitiv ar fi țesutul uman FFPE cu prezența mucinelor acide și neutre (intestinul gros, intestinul subțire sau glandele salivare). Țesutul de control trebuie să fie o probă obținută în urma autopsiei recente, biopsiei sau intervenției chirurgicale, preparată sau fixată cât mai repede posibil, în mod identic cu secțiunile de testare. Aceste țesuturi trebuie să monitorizeze toate etapele de analiză, de la prepararea țesutului până la colorare.

Utilizarea unei secțiuni de țesut fixat sau prelucrat diferit de probele de test oferă control pentru toți reactivii și etapele metodei, cu excepția fixării și a prelucrării țesutului.

Componentele celulare ale altor elemente de țesut pot servi drept control negativ.

Practica de laborator optimă este aceea de a include o secțiune de control pozitiv pe aceeași lamă cu țesutul de test. Acest lucru ajută la identificarea oricăror eșecuri prin aplicarea reactivului pe lamă. Țesutul de control poate conține elemente de colorare atât pozitive cât și negative și servește în calitate de control pozitiv dar și negativ.

Țesutul de control trebuie testat la fiecare testare.

Controalele cu țesut pozitiv cunoscute trebuie utilizate doar pentru monitorizarea performanțelor corecte ale țesuturilor procesate și reactivilor de testare, nu ca mijloc auxiliar de determinare a unui diagnostic specific al probelor pacientului.

Dacă componentele cu țesut pozitiv nu demonstrează colorarea pozitivă, rezultatele cu probele de testare trebuie considerate nevalide. Dacă componentele cu țesut negativ demonstrează colorarea pozitivă, rezultatele cu probele de la pacient trebuie considerate nevalide, de asemenea.

Discrepanțele nejustificate din rezultatele controlului trebuie comunicate imediat reprezentantului dvs. de asistență local. Dacă rezultatele controlului de calitate nu

corespund specificațiilor, rezultatele pacientului nu sunt valide. Cauza trebuie identificată și corectată, iar probele de la pacient trebuie prelevate din nou.

INTERPRETAREA COLORĂRII/REZULTATE PRECONIZATE

Alcian Blue for PAS, împreună cu PAS Stain Core Kit sau PAS Staining Kit, este testat pentru a demonstra colorarea mucinelor acide și neutre.

- Mucine acide: albastru
- Mucine neutre: magenta
- Nuclee: mov

LIMITĂRI SPECIFICE

Pentru acest test au fost utilizate și validate doar lame de microscop încărcate pozitiv.

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

PERFORMANȚĂ ANALITICĂ

Au fost desfășurate teste de colorare pentru sensibilitate, specificitate și precizie, rezultatele fiind menționate mai jos.

Sensibilitate și specificitate

Au fost evaluate sensibilitatea și specificitatea analitice pentru cazurile de țesut normal și cu afecțiuni împreună cu PAS Stain Core Kit și PAS Staining Kit. Toate cazurile de țesut evaluate (71/71 cu PAS Stain Core Kit și 93/93 cu PAS Staining Kit) au fost promovate ca având colorație acceptabilă, după cum este prezentat în Tab. 3 și Tab. 4.

Tab. 3. Sensibilitatea/specificitatea Alcian Blue for PAS a fost determinată prin testarea următoarelor țesuturi FFPE normale.

Țesut	PAS Stain Core Kit Nr. cazuri promovate/nr. testate	PAS Staining Kit Nr. cazuri promovate/nr. testate
Intestinul gros	6/6	6/6
Intestinul subțire	10/10	9/9
Esofag	6/6	7/7
Stomac	6/6	9/9
Piele	6/6	15/15
Glanda salivară	6/6	11/11

Tab. 4. Sensibilitatea/specificitatea Alcian Blue for PAS a fost determinată prin testarea următoarelor țesuturi FFPE cu afecțiuni.

Țesut	PAS Stain Core Kit Nr. cazuri promovate/nr. testate	PAS Staining Kit Nr. cazuri promovate/nr. testate
Esofagul Barrett	17/17	11/11
Metaplazie intestinală (Esofag)	7/7	16/16
Metaplazie intestinală (Stomac)	7/7	9/9

Precizie

Precizia Alcian Blue for PAS a fost determinată împreună cu PAS Stain Core Kit și PAS Staining Kit pentru mai multe testări, zile, instrumente și loturi de reactiv, utilizând mai multe lame tăiate de la 3 cazuri de țesut de intestin gros normal și 3 cazuri de țesut de intestin subțire normal. Toate criteriile de acceptanță au fost îndeplinite integral. Au fost efectuate studii de precizie, în conformitate cu Tab. 5.

Tab. 5. Studii de precizie efectuate asupra lamelor pentru Alcian Blue for PAS.

Parametrii testați	Nr. de condiții	PAS Stain Core Kit Nr. cazuri promovate/nr. testate	PAS Staining Kit Nr. cazuri promovate/nr. testate
Între testări	3 testări, aceeași zi	54/54	54/54
Între zile	5 zile	90/90	90/90
Între instrumente	3 instrumente	54/54	54/54
În cadrul aceleiași testări	aceeași zi, același instrument	54/54	54/54
Între loturi	3 loturi	54/54	54/54

DEPANARE

- Grosimea secțiunii poate afecta calitatea și intensitatea colorației. În cazul în care colorația nu este corespunzătoare, contactați reprezentantul dvs. de asistență local.
- Țesutul necrotic sau autolizat poate prezenta colorare nespecifică.
- În cazul în care controlul pozitiv este negativ, este posibil ca țesutul să fi fost prelevat, fixat sau deparafinat în mod necorespunzător. Urmați procedura adecvată pentru prelevare, depozitare și fixare.
- În cazul în care controlul pozitiv este negativ, asigurați-vă că lama are eticheta cu codul de bare corectă. Dacă lama este etichetată corect, verificați celelalte controale pozitive din aceeași testare pentru a determina dacă acestea au fost colorate în mod corespunzător.
- Dacă apare colorarea de fond excesivă: îndepărtarea incompletă a parafinei poate cauza artefacte de colorare sau lipsa colorării. Dacă nu este îndepărtată toată parafina de pe lamă, repetați ciclul de colorare utilizând opțiunea de deparafinare extinsă, dacă este disponibilă.
- Dacă secțiunile de țesut sunt spălate de pe lamă, confirmați că lamele sunt încărcate pozitiv.
- Staționarea extinsă a lamelor pe instrument după finalizarea testării poate afecta calitatea și intensitatea colorației. În cazul în care colorația nu este adecvată, îndepărtați lamele imediat la sfârșitul testării și continuați cu post-prelucrarea instrumentului.
- Pentru acțiuni corective, consultați secțiunea Instrucțiuni de utilizare, ghidul de utilizare a instrumentului sau contactați reprezentantul dvs. de asistență local.

REFERINȚE

- 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.

NOTĂ: Punctul este utilizat întotdeauna în acest document ca separator zecimal pentru a marca limita dintre numărul întreg și părțile fracționale ale unui număr zecimal. Nu se utilizează separatoare pentru mii.

Simboluri

Ventana utilizează următoarele simboluri și semne în plus față de cele menționate în standardul ISO 15223-1 (pentru SUA: consultați elabdoc.roche.com/symbols pentru mai multe informații).



Numărul global al articolului comercial

Rx only

Pentru SUA: Atenție: Legislația federală restricționează vânzarea acestui dispozitiv de către sau la ordinul unui medic.

ISTORICUL REVIZIILOR

Rev.	Actualizări
H	Actualizare pentru adăugarea PAS Stain Core Kit la secțiunile Domeniu de utilizare, Rezumat și explicație, Principiul procedurii, Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate, Protocol recomandat, Interpretarea colorării/rezultate preconizate și Performanță analitică. Au fost actualizate în șablonul actual. A fost actualizată figura 1.

PROPRIETATE INTELECTUALĂ

VENTANA, BENCHMARK și VENTANA HE sunt mărci comerciale ale Roche. Toate celelalte nume de produs și mărci comerciale reprezintă proprietatea deținătorilor respectivi.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMAȚII DE CONTACT



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

