

Alcian Blue Staining Kit

REF

860-002

05279186001

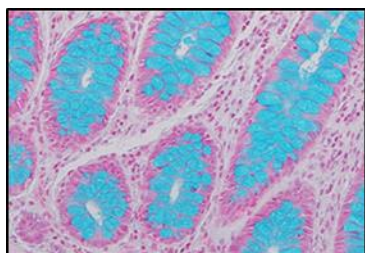
IVD
 75


Figure 1. Coloration d'une coupe de tissu de côlon à l'aide de l'Alcian Blue Staining Kit

UTILISATION PREVUE

L'Alcian Blue Staining Kit est destiné à une utilisation en laboratoire en tant que colorant histologique qualitatif pour mettre en évidence en microscopie optique les mucopolysaccharides faiblement acides dans les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) colorées sur l'appareil BenchMark Special Stains.

Ce produit doit être interprété par un anatomopathologiste qualifié, en complément d'examen histologiques,

d'informations cliniques pertinentes et de contrôles adaptés.

Ce produit est conçu pour utilisation en diagnostic in vitro (IVD).

RESUME ET EXPLICATION

Les mucopolysaccharides (mucines) sont un composant clef des cellules calciformes, des cellules épithéliales de la muqueuse intestinale dont la fonction est de synthétiser et de sécréter du mucus.¹ Les cellules calciformes se trouvent habituellement dans l'épithélium de l'intestin grêle et du gros intestin et ne sont généralement pas présentes dans l'œsophage et dans l'estomac.²

Les propriétés chimiques de l'Alcian Blue permettent d'utiliser ce colorant pour détecter les mucines faiblement acides dans les cellules calciformes. Les polysaccharides des mucines acides, mais pas ceux des mucines neutres, sont colorés en bleu à un pH de 2,5.^{3,4}

L'Alcian Blue Staining Kit est utilisé pour aider l'anatomopathologiste à identifier les cellules calciformes. La présence de cellules calciformes dans l'œsophage et l'estomac est anormale, et la coloration aide l'anatomopathologiste à diagnostiquer la métaplasie intestinale et de l'œsophage de Barrett.

PRINCIPE DE LA PROCEDURE

La réaction de coloration est fondée sur la réaction de l'Alcian Blue au pH de 2,5 et des composés polyanioniques. L'Alcian Blue est un colorant basique polyvalent soluble dans l'eau qui tire sa couleur bleue du groupe phtalocyanine de cuivre modifié à l'aide d'agents solubilisants cationiques.^{3,5} Au cours de la réaction de coloration, des liens salins sont formés entre l'Alcian Blue et les groupes de mucopolysaccharides acides, ce qui produit une coloration bleue. Le Nuclear Fast Red Counterstain est ensuite appliqué pour produire un fond contrasté de couleur rose.

Ce kit est optimisé pour une utilisation sur les appareils BenchMark Special Stains. Les réactifs sont appliqués sur les tissus étalés sur les lames de microscope et mélangés sur l'intégralité de la surface de l'échantillon.

MATERIEL FOURNI

Les flacons de réactif sont fournis dans des portoirs identifiés par des étiquettes code-barres, qui sont insérés dans le plateau de réactifs de l'appareil. Chaque kit contient suffisamment de réactifs pour 75 tests.

Un flacon de 22 mL d'Alcian Blue contient 1,2 % de bleu alcian dans une solution d'acide acétique à 3 %.

Un flacon de 22 mL de Nuclear Fast Red Counterstain contient environ 0,2 % de rouge nucléaire rapide et environ 5 % de sulfate d'aluminium.

Deux inserts de flacon avec des pailles.

Reconstitution, mélange, dilution, titration

Aucune étape de reconstitution, de mélange, de dilution ou de titration des réactifs du kit n'est nécessaire. Une dilution plus poussée des réactifs peut conduire à une coloration non optimale.

Les réactifs de ce kit ont été dilués de façon optimale pour une utilisation sur les appareils BenchMark Special Stains.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Il est possible que certains produits indiqués dans la fiche technique ne soient pas disponibles dans certains pays. Contacter un représentant du service client local.

Les réactifs et le matériel suivants peuvent être nécessaires pour la coloration, mais ne sont pas fournis :

1. Tissus de contrôle recommandés
2. Lames de microscope chargées positivement
3. Appareil BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (réf. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (réf. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (réf. 860-041 / 08309817001)
7. Matériel courant de laboratoire

CONSERVATION ET STABILITE

L'Alcian Blue Staining Kit doit être conservé entre 15 et 30 °C.

S'ils sont conservés correctement, les réactifs ouverts et non ouverts sont stables jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration indiquée sur le kit.

Étant donné qu'il n'existe aucun signe évident indiquant l'instabilité de ces réactifs, des contrôles doivent toujours être testés en même temps que les échantillons inconnus.

Contactez un représentant du service client local si une baisse de la coloration du contrôle positif est constatée, car cela peut être l'indication de l'instabilité des réactifs.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les tissus utilisés avec ce produit et les appareils BenchMark Special Stains doivent être des tissus FFPE préparés selon les techniques habituelles. Le fixateur de tissus recommandé est le formol neutre tamponné à 10 %.⁶

Prélever les échantillons et les conserver conformément au document Histotechnology : A Self Instructional Text.⁶ Préparer des coupes d'une épaisseur appropriée (environ 4 µm), et les monter sur des lames de verre positivement chargées.

1. Sécher les lames.⁶
2. Imprimer une ou plusieurs étiquettes code-barres appropriées.
3. Apposer les étiquettes code-barres sur l'extrémité dépolie des lames avant de les charger sur l'appareil (voir les instructions pour l'apposition correcte des étiquettes dans le guide d'utilisation de l'appareil).

Se reporter à la rubrique Mode d'emploi pour le protocole recommandé pour l'appareil BenchMark Special Stains.


AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour utilisation en diagnostic in vitro (IVD).
2. Pour utilisation professionnelle uniquement.
3. **ATTENTION** : aux États-Unis, la loi fédérale stipule que ce produit peut être vendu uniquement par un médecin ou sur prescription médicale. (Rx Only).
4. Ne pas utiliser au-delà du nombre de tests indiqué.
5. Les conditions ambiantes peuvent affecter les lames chargées positivement et conduire à une coloration inappropriée. Un représentant Roche pourra fournir plus d'informations sur l'utilisation de ces types de lames.
6. Les produits d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme susceptibles de présenter un risque biologique et être éliminés en prenant les précautions appropriées. En cas d'exposition à un tel produit, il convient de respecter les directives des autorités de santé compétentes.^{7,8}
7. Éviter tout contact des yeux et des muqueuses avec les réactifs. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.
8. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.

9. Pour plus d'informations sur l'utilisation de ce produit, se référer au guide d'utilisation de l'appareil BenchMark Special Stains et au mode d'emploi de tous les composants nécessaires à l'adresse navifyportal.roche.com.
10. Consulter les autorités locales et/ou nationales pour connaître la méthode d'élimination recommandée.
11. L'étiquetage de sécurité des produits suit principalement les directives SGH de l'UE. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les utilisateurs professionnels.
12. Pour signaler toute suspicion d'événement grave lié à ce dispositif, contacter un représentant Roche local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel le dispositif est utilisé.

Ce produit contient des composants classés comme suit conformément au Règlement (CE) N° 1272/2008 :

Tableau 1. Mentions de danger.

| Danger | Code | Mention |
|---|---------------------------------|---|
|  | H290 | Peut être corrosif pour les métaux. |
| | H318 | Provoque des lésions oculaires graves. |
| | P234 | Conserver uniquement dans l'emballage d'origine. |
| | P280 | Porter un équipement de protection des yeux/du visage. |
| | P305+ P351+ P338+ P310 | EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. |
| | P390 | Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants. |

MODE D'EMPLOI

Préparation du flacon de réactif

Avant la première utilisation, un insert de flacon et une paille doivent être mis en place dans le flacon de réactif.

Retirer le bouchon d'expédition du flacon et mettre en place l'insert et la paille dans le flacon. Une fois le flacon ouvert, l'insert et la paille doivent être laissés en place dans le flacon.

Procédure de coloration

1. Charger les réactifs et les lames sur l'appareil.
2. Pendant l'utilisation du réactif, ranger le bouchon souple dans la fente sur le support de réactifs.
3. Exécuter le cycle de coloration conformément au protocole recommandé dans Tableau 2 et aux instructions du guide d'utilisation.
4. Une fois le cycle terminé, retirer les lames de l'appareil.
5. Boucher le flacon de réactif avec le bouchon souple lorsque le réactif n'est pas utilisé.
6. Après utilisation, conserver les réactifs conformément aux conditions de conservation recommandées.

Protocole recommandé

Les paramètres des procédures automatisées peuvent être affichés, imprimés et modifiés conformément à la procédure décrite dans le guide d'utilisation de l'appareil.

Les procédures suivantes sont adaptables aux préférences de l'utilisateur. Même si ce produit a été optimisé pour une utilisation sur les appareils BenchMark Special Stains, l'utilisateur doit tout de même valider les résultats obtenus avec ce produit.

Tableau 2. Protocole de coloration recommandé pour l'Alcian Blue Staining Kit sur un appareil BenchMark Special Stains.

| Procédure de coloration | S Alcian Blue Staining Kit |
|--|--|
| Étape du protocole | Méthode |
| Déparaffinage | À sélectionner pour exécuter le déparaffinage automatique. |
| Séchage (facultatif) | Le réglage par défaut n'est pas sélectionné. Séchage recommandé à 75 °C pendant 4 minutes. |
| Optimiser l'intensité de la coloration (Alcian Blue) | La durée par défaut est de 8 minutes. Sélectionner pour permettre l'ajustement de l'intensité de la coloration : * Sélectionner une durée d'incubation de 4 à 20 minutes : 4 minutes, coloration plus claire de la mucine 20 minutes, coloration plus foncée de la mucine. |
| Optimiser l'intensité de la contre-coloration (Alcian Blue NFR) | La durée par défaut est de 4 minutes. Sélectionner pour permettre l'ajustement de l'intensité de la contre-coloration : * Sélectionner une durée d'incubation de 4 à 16 minutes : 4 minutes, contre-coloration plus claire 16 minutes, contre-coloration plus foncée |

* Pour ajuster la coloration à sa convenance, augmenter la température de coloration et la durée d'incubation d'un paramètre à la fois.

Procédure recommandée après traitement sur l'appareil

1. Déshydrater les lames dans deux bains successifs d'éthanol à 95 % pour éliminer toute solution résiduelle, puis les plonger dans trois bains successifs d'éthanol à 100 %.
2. Clarifier les lames dans 3 bains successifs de xylène à 100 %.
3. Coverslip avec du milieu de montage permanent.

Compatible avec le protocole de montage du système VENTANA HE 600. Pour davantage d'instructions, se reporter au guide d'utilisation du système VENTANA HE 600.

PROCEDURE DE CONTROLE QUALITE

Du tissu humain FFPE avec des mucines acides ou des mucopolysaccharides acides, comme du tissu de côlon ou d'intestin grêle est un exemple de tissu de contrôle positif. Le tissu de contrôle doit être un échantillon fraîchement prélevé lors d'une autopsie, d'une biopsie ou d'une intervention chirurgicale et préparé ou fixé dès que possible après le prélèvement et de manière identique aux coupes à tester. Un tel tissu peut servir de contrôle à toutes les étapes de l'analyse, de la préparation des tissus à leur coloration.

L'utilisation d'une coupe de tissu fixé et préparé d'une autre manière que l'échantillon à tester sert de contrôle pour tous les réactifs et toutes les étapes de la méthode, sauf la fixation et la préparation du tissu. Les composants cellulaires des autres éléments tissulaires peuvent servir de contrôle négatif.

Il est considéré comme bonne pratique de laboratoire d'inclure une coupe de tissu de contrôle positif sur la même lame que le tissu à tester. Cela permet d'identifier tout problème d'application des réactifs sur la lame. Le tissu de contrôle peut comprendre à la fois des éléments positifs et des éléments négatifs à la coloration et peut servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif.

Le tissu de contrôle doit être testé à chaque cycle de coloration.

Des tissus de contrôle positif connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier les performances des tissus traités et des réactifs du test, et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur les échantillons des patients.

Si les composants tissulaires qui devraient être positifs ne présentent pas de coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons testés doivent alors être considérés comme non valides. Si les composants qui devraient être négatifs présentent une coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons des patients doivent aussi être considérés comme non valides.

Tout écart inexplicable par rapport aux résultats attendus pour les contrôles doit être signalé à un représentant du service client local. Si les résultats des contrôles qualité ne sont pas conformes aux spécifications, les résultats des patients sont non valides. La cause doit être identifiée et corrigée, et les échantillons des patients doivent être retestés.

INTERPRETATION DE LA COLORATION / RESULTATS ATTENDUS

La capacité de l'Alcian Blue Staining Kit à mettre en évidence les mucopolysaccharides faiblement acides est testée à la fabrication.

Mucopolysaccharides faiblement acides (mucines) : bleu clair

Noyaux : rose à rouge

Cytoplasme : rose

Une coloration bleue a été observée dans d'autres cellules que les cellules calciformes.

LIMITES SPECIFIQUES

Seules des lames de microscope chargées positivement ont été utilisées et validées pour ce test.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

PERFORMANCES ANALYTIQUES

Des tests de coloration ont été réalisés pour évaluer la sensibilité, la spécificité et la précision. Leurs résultats sont présentés ci-dessous.

Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité analytiques ont été évaluées sur des tissus gastro-intestinaux normaux et pathologiques. Une coloration acceptable a été obtenue pour 61 des 62 (98,4 %) cas de tissus évalués (Tableau 3 et Tableau 4).

Tableau 3. La sensibilité/spécificité de l'Alcian Blue Staining Kit a été déterminée par coloration des tissus normaux FFPE suivants.

| Tissu | Nb de cas concluants/nb de cas testés |
|----------------|---------------------------------------|
| Œsophage | 7 / 7 |
| Estomac | 10 * / 11 |
| Intestin grêle | 9 / 9 |
| Côlon | 5 / 5 |

* Dans un cas, une coloration bleue excessive a été observée dans d'autres cellules que les cellules calciformes.

Tableau 4. La sensibilité/spécificité de l'Alcian Blue Staining Kit a été déterminée par coloration des tissus pathologiques FFPE suivants.

| Tissu | Nb de cas concluants/nb de cas testés |
|-----------------------------------|---------------------------------------|
| Métaplasie intestinale (estomac) | 8 / 8 |
| Métaplasie intestinale (œsophage) | 8 / 8 |
| Œsophage de Barrett | 14 / 14 |

Précision

La précision de l'Alcian Blue Staining Kit a été déterminée sur plusieurs cycles, plusieurs jours, plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs en utilisant plusieurs lames de trois cas de tissus de côlon normaux et de trois cas de tissus d'intestin grêle normaux. Tous les critères d'acceptation ont été entièrement satisfaits. Les études de la précision de l'Alcian Blue Staining Kit ont été réalisées dans les conditions décrites dans le Tableau 5.

Tableau 5. Études de la précision de l'Alcian Blue Staining Kit.

| Paramètres testés | Nb de conditions | Nb de lames concluantes/nb de lames testées |
|-------------------|------------------------|---|
| Intercycles | 3 cycles, le même jour | 54 / 54 |
| Interjours | 5 jours | 90 / 90 |

| Paramètres testés | Nb de conditions | Nb de lames concluantes/nb de lames testées |
|-------------------|--------------------------|---|
| Interappareils | 3 appareils | 54 / 54 |
| Intracycle | même jour, même appareil | 54 / 54 |
| Interlots | 3 lots | 54 / 54 |

RESOLUTION DES PROBLEMES

1. L'épaisseur des coupes peut affecter la qualité et l'intensité de la coloration. Si la coloration n'est pas satisfaisante, demander de l'aide au représentant du service client local.
2. Les tissus nécrotiques et autolysés peuvent présenter une coloration non spécifique.
3. Si le contrôle positif est négatif, le tissu n'a peut-être pas été correctement prélevé, fixé ou déparaffiné. Suivez la procédure appropriée pour le prélèvement, la conservation et la fixation.
4. Si le contrôle positif est négatif, vérifier si la lame porte la bonne étiquette code-barres. Si la lame est correctement étiquetée, vérifier les autres contrôles positifs du même cycle pour déterminer si les contrôles ont été correctement colorés.
5. Si la coloration de fond est excessive : un déparaffinage incomplet peut causer des artefacts de coloration ou être à l'origine d'une absence de coloration. Si toute la paraffine n'est pas éliminée de la lame, répéter le cycle de coloration en utilisant l'option Déparaffinage prolongé, si elle est disponible.
6. Si les coupes de tissu se détachent des lames, vérifier que les lames sont positivement chargées.
7. Le séjour prolongé des lames dans l'appareil après la fin du cycle peut affecter la qualité et l'intensité de la coloration. Si la coloration n'est pas satisfaisante, essayer de retirer les lames dès la fin du cycle et appliquer les procédures après traitement sur l'appareil sans attendre.
8. Pour les mesures correctives, consulter la rubrique Mode d'emploi ou le guide d'utilisation de l'appareil, ou contacter un représentant du service client local.

REFERENCES

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.

REMARQUE : dans ce document, le point est toujours utilisé comme séparateur décimal pour indiquer la séparation entre la partie entière et la partie décimale des nombres décimaux. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Le résumé des résultats sur la sécurité et les performances est disponible ici : <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symboles

Ventana utilise les symboles et les signes suivants en plus de ceux indiqués dans la norme ISO 15223-1 (pour les États-Unis, voir elabdoc.roche.com/symbols pour de plus amples informations).



Code article international



Identifiant unique des dispositifs médicaux



Indique l'entité important le dispositif médical dans l'Union européenne

HISTORIQUE DES REVISIONS

| Rév. | Mises à jour |
|------|---|
| L | Mises à jour des sections Avertissements et précautions d'emploi, Références et Symboles. |

PROPRIETE INTELLECTUELLE

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE et le logo VENTANA sont des marques commerciales de Roche. Toutes les autres marques commerciales appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

COORDONNEES



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

