

Alcian Blue for PAS

REF 860-003
05279194001

IVD Σ 75

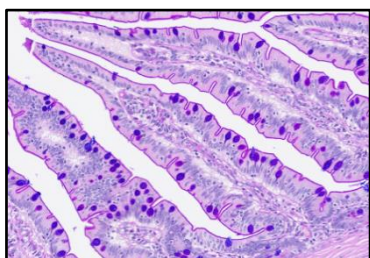


Fig. 1. Alcian Blue for PAS-farvning af tyndtarm i kombination med PAS Stain Core Kit.

TILSIGTET ANVENDELSE

Alcian Blue for PAS i kombination med PAS Staining Kit ELLER PAS Stain Core Kit er beregnet til kvalitativ histologisk farvning i laboratoriebrug for at skelne mellem sure og neutrale muciner ved lysmikroskopi i formalinfikserede og paraffinindstøbte (FFPE) vævssnit på et BenchMark Special Stains-instrument.

Dette produkt skal fortolkes af en kvalificeret patolog og sammenholdes med histologisk undersøgelse, relevante kliniske oplysninger og

egnede kontroller.

Dette produkt er beregnet til in vitro diagnostisk (IVD) brug.

RESUMÉ OG FORKLARING

Alcian Blue for PAS er et kit med en enkelt flaske i og bruges i kombination med et VENTANA PAS kit (PAS Stain Core Kit eller PAS Staining Kit). VENTANA PAS kits er baseret på den første histokemiske anvendelse af denne teknik, der oprindeligt blev beskrevet af McManus i 1946, til at visualisere muciner, glykogen, basalmembran og svampeorganismer gennem kombinationen af oxidation af polysaccharider ved perjodsyre og farvning med Schiff's Reagent.¹

Muciner er en nøglekomponent i bægerceller, tarmslimhindeepitelceller, hvis funktion er at syntetisere og udskille slim.² Bægerceller findes normalt i tyndtarmens sekretoriske epitelceller og findes generelt ikke i øsofagus eller mavesækken.³

Alcian Blue for PAS bruges til at hjælpe patologen med at identificere bægerceller. Tilstedeværelsen af bægerceller i øsofagus og mavesækken er unormal, og farvningen hjælper patologen med diagnosen af tarmmetaplasie og Barretts øsofagus.

PROCEDURENS PRINCIP

VENTANA PAS Kits anvender Periodic Acid-reagens til at oxidere glykoler til aldehyder. Schiff's Reagent danner en farveløs dialdehydforbinding, der omdannes til magenta farvning af glykolholdige cellulære komponenter.⁴ De kemiske egenskaber ved Alcian Blue gør det muligt for farvestoffet at påvise svagt sure muciner i bægerceller. Alcian Blue for PAS, med en pH på 2,5, farver sure mucopolysaccharider blå.⁵

Dette kit er optimeret til brug på BenchMark Special Stains-instrumenter. Reagenserne anvendes på vævet på objektglassene til mikroskopi og blandes ud over hele præparatet.

LEVERET MATERIALE

Reagenshætteglassene leveres i en holder med stregkodemærkat og skal opbevares i instrumentets reagensbakke. Hvert kit indeholder tilstrækkeligt med reagens til 75 tests: Et 22 mL-hætteglas med Alcian Blue indeholder cirka 1,2 % anilblå og 3 % eddikesyre. Én hætteglasholder med sugerør.

Rekonstitution, blanding, fortynding og titrering

Ingen rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af kitreagenser er nødvendig. Yderligere fortynding af et eller flere reagenser kan medføre utilfredsstillende farvning. Reagenserne i dette kit er fortyndet specifikt til brug på BenchMark Special Stains-instrumenter.

NØDVENDIGE MATERIALER, SOM IKKE MEDFØLGER

Det er ikke alle produkter, der er nævnt i metodearket, som kan fås i alle geografiske områder. Indhent oplysninger hos den lokale supportrepræsentant.

Nedenstående reagenser og materialer kan være påkrævet ved farvning, men medfølger ikke:

1. Anbefalet kontrolvæv
2. Objektglas, 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-kit
 - 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. Generelt laboratorieudstyr

OPBEVARING OG STABILITET

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

Ved korrekt opbevaring er både uåbnede og åbne reagenser stabile indtil den dato, der er angivet på etiketten. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen på kittet.

Der er ingen tydelige tegn på, om disse reagenser er ustabile. Derfor bør positive og negative kontroller køres samtidigt med ukendte prøver. Kontakt din lokale supportrepræsentant, hvis en positiv vævskontrol udviser svagere farvning, da dette kan være et tegn på et ustabil reagens.

PRÆPARATFORBEREDELSE

FFPE-væv er egnede til brug med dette produkt og BenchMark Special Stains-instrumenter. Det anbefalede vævsskivningsniveau er 10 % neutral buffer-formalin.⁴

Indsaml præparater, og opbevar produkterne i henhold til Histotechnology: A Self Instructional Text.⁴ Udskær vævssnit i den passende tykkelse, cirka 4 µm, og placer vævssnittene på positivt ladede objektglas.

1. Tør objektglassene.⁴
2. Udskriv den eller de relevante stregkodemærkater.
3. Påfør stregkodemærkaterne i den melerede ende af objektglassene før de indsættes i instrumentet (se brugervejledningen om korrekt påførelse af stregkodemærkater).

Se afsnittet Brugervejledning for at læse mere om den anbefalede protokol til BenchMark Special Stains-instrumentet.

ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

1. Til in vitro diagnostisk (IVD) brug.
2. Kun til faglig anvendelse.
3. Brug ikke efter det angivne antal tests.
4. Positivt ladede objektglas kan være modtagelige over for stressfaktorer i det omgivende miljø, hvilket kan medføre uhensigtsmæssig farvning. Bed din Roche-repræsentant om yderligere oplysninger om, hvordan denne type objektglas skal anvendes.
5. Materialer af human eller animalsk oprindelse skal håndteres som biologisk farligt materiale og bortskaffes i henhold til gældende forholdsregler. I tilfælde af eksponering skal de ansvarlige myndigheders sundhedsdirektiver følges.^{6,7}
6. Undgå, at reagenser kommer i kontakt med øjne og slimhinder. Vask med rigelige mængder vand, hvis reagenserne kommer i kontakt med følsomme områder.
7. Undgå mikrobiel kontamination af reagenserne, da det kan forårsage fejlbehæftede resultater.
8. Yderligere information om brugen af denne enhed findes i BenchMark Special Stains-instrumentets brugsanvisning og brugervejledningerne til alle nødvendige komponenter på navifyportal.roche.com.
9. Indhent oplysninger hos lokale og/eller statslige myndigheder vedrørende den anbefalede metode til bortskaffelse.
10. Mærkning af produktsikkerhed følger primært EU's GHS-vejledning. Sikkerhedsdatablade er tilgængelige efter anmodning for faglige brugere.
11. For at rapportere mistanke om alvorlige hændelser i forbindelse med denne enhed, skal du kontakte den lokale Roche-repræsentant og den kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren har etableret sig.

BRUGERVEJLEDNING

Klargøring af reagenshætteglas

Inden første gangs brug anbringes en hætteglasindsats og et sugerør i reagenshætteglasset.

Fjern fragthætten fra hætteglasset, og læg indsatsen og sugerøret i hætteglasset. Lad indsatsen og sugerøret ligge i hætteglasset, efter det er blevet åbnet.

Farvningsprocedure

1. Indsæt reagenser og objektglas i instrumentet.
2. Placer den bløde hætte i hullet på reagensholderen, mens reagenset er i brug.
3. Udfør farvekørslen i henhold til den anbefalede protokol i Tab. 1 eller Tab. 2 og anvisningerne i brugervejledningen.
4. Når kørslen er fuldført, tages objektglassene ud af instrumentet.
5. Sæt den bløde hætte tilbage på reagenshætteglasset, når reagenset ikke er i brug.
6. Efter brug opbevares reagenserne i henhold til de anbefalede opbevaringsforhold.

Anbefalet protokol

Parametrene for de automatiserede procedurer kan vises, udskrives og redigeres i henhold til den procedure, der er beskrevet i instrumentets brugervejledning.

Følgende procedurer giver mulighed for fleksibilitet og dermed brugerens præferencer. Dette produkt er optimeret til brug med BenchMark Special Stains-instrumenter, men brugeren skal sørge for at validere produktresultaterne.

Tab. 1. Anbefalet farvningsprotokol for Alcian Blue for PAS med PAS Stain Core Kit og Special Stains Hematoxylin på et BenchMark Special Stains-instrument.

Farvningsprocedure	S PAS Alcian Blue
Protokoltrin	Metode
Afparaffinerings	Vælg for at automatisere afparaffinerings
Bagning (valgfrit)	Standardindstillingen er ikke valgt. 4 minutter ved 75 °C anbefales.
Diastase*	Ikke valgt. Denne valgmulighed skal valideres af brugeren.
Optimize Alcian Blue Intensity (Alcian Blue)	Standardindstillingen er 8 minutter ved 37 °C. Vælges for at muliggøre justering af inkubationstid og -temperatur. Vælg en inkubationstemperatur fra 37 °C til 60 °C: 37 °C – lysere farvning af mucin 60 °C – mørkere farvning af mucin Vælg en inkubationstid på 8 til 16 minutter: 8 minutter – lysere farvning af mucin 16 minutter – mørkere farvning af mucin

Farvningsprocedure	S PAS Alcian Blue
Protokoltrin	Metode
Optimize PAS	Standardindstillingen er Periodic Acid i 4 minutter og Schiff's A + Schiff's B i 12 minutter ved 37 °C. Vælges for at muliggøre justering af inkubationstid og -temperatur. Vælg en inkubationstemperatur fra 37 °C til 60 °C: 37 °C – lysere farvning af mucin 60 °C – mørkere farvning af mucin Vælg en inkubationstid for Periodic Acid-reagens fra 4 til 20 minutter: 4 minutter – lysere farvning af mucin 20 minutter – mørkere farvning af mucin Vælg en inkubationstid for Schiff's A + Schiff's B på 8 til 20 minutter: 8 minutter – lysere farvning af mucin 20 minutter – mørkere farvning af mucin
Optimize Hematoxylin Intensity	Standardindstillingen er 4 minutter. Vælges for at muliggøre justering af inkubationstid: Ingen Hematoxylin 4 minutter – lysere kernerfarvning 12 minutter – mørkere kernerfarvning

* Yderligere proceduremulighed er tilgængelig for produkter, der kan bruges i kombination med PAS Stain Core Kit og Alcian Blue for PAS.

** For at justere farvningsindstillinger øges farvningstemperaturen inkubationstiden én parameter ad gangen.

Tab. 2. Anbefalet farvningsprotokol for Alcian Blue for PAS med PAS Staining Kit på et BenchMark Special Stains-instrument.

Farvningsprocedure	S PAS
Protokoltrin	Metode
Afparaffinerings	Vælg for at automatisere afparaffinerings
Bagning (valgfrit)	Standardindstillingen er ikke valgt. 4 minutter ved 75 °C anbefales.
Alcian Blue	Standardindstillingen er ikke valgt. Vælges for at aktivere valgmulighederne Alcian Blue og Alcian Blue for PAS.
Diastase for PAS AB* (valgfrit)	Ikke valgt. Denne valgmulighed skal valideres af brugeren.
Optimize Stain Intensity (PAS Alcian Blue)	Standardindstillingen er 8 minutter. Vælg for at muliggøre justering af farvningsintensitet.** Vælg en inkubationstid på 8 til 16 minutter: 8 minutter – lysere farvning af mucin 16 minutter – mørkere farvning af mucin

Farvningsprocedure	S PAS
Protokoltrin	Metode
Hematoxylin for Alcian Blue (valgfrit)	Standardindstillingen er ikke valgt. Vælges for at aktivere påføring af Hematoxylin. Vælg Optimize Hematoxylin Intensity for at aktivere justering af Hematoxylin-inkubationstid.
Optimize Hematoxylin Intensity (PAS Hematoxylin)	Standardindstillingen er 4 minutter. Vælges for at muliggøre justering af inkubationstid: 4 minutter – lysere kernefarvning 12 minutter – mørkere kernefarvning

*Yderligere proceduremulighed er tilgængelig for produkter, der kan bruges i kombination med PAS Staining Kit og Alcian Blue for PAS.

** For at justere farvningsindstillinger øges farvningstemperaturen inkubationstiden én parameter ad gangen.

Anbefalet behandling efter kørsel på instrumentet

1. Dehydrer objektglassene i to hold 95 % ethanol for at fjerne resterende opløsning, efterfulgt af tre hold 100 % ethanol.
2. Ryd objektglassene i 3 hold 100 % xylene.
3. Påsæt dækglass i form af permanent monteringsmateriale.
4. Kompatibel med VENTANA HE 600-systemets protokol for påsætning af dækglass. Yderligere instruktioner findes i brugervejledningen til VENTANA HE 600-systemet.

METODER TIL KVALITETSKONTROL

Et eksempel på et positivt kontrolmateriale er humant FFPE-væv med tilstedeværelse af sure og neutrale muciner (colon, tyndtarm eller spytkirtler). Kontrolvæv skal være en ny obduktionsprøve, biopsiprøve eller kirurgisk præparat, der er klargjort eller fikseret så hurtigt som muligt på en måde, der er identisk med testsnittene. Sådanne væv kan overvåge alle trin i analysen fra vævsklargøring til farvning.

Brug af et vævssnit, der er fikseret eller behandlet på en anden måde end prøven, kan bruges som kontrol for alle reagenser og metodetrin undtagen fiksering og vævsbehandling.

De cellulære dele af andre vævselementer kan fungere som den negative kontrol.

Bedst mulig laboratoriepraksis skal omfatte et positivt kontrolsnit på samme objektglas som testvævet. Dette hjælper med at identificere fejl i forbindelse med påføringen af reagens på objektglasset. Kontrolvæv kan indeholde både positive og negative farvningselementer og kan benyttes både som positiv og negativ kontrol.

Kontrolvævet skal testes ved hver kørsel.

Kendte positive kontroller må kun benyttes til overvågning af, at behandlede væv og testreagenser fungerer korrekt, ikke som hjælp til at formulere en specifik diagnose for patientprøver.

Hvis de positive vævsdele ikke udviser positiv farvning, skal resultaterne med testprøverne anses for ugyldige. Hvis de negative vævsdele udviser positiv farvning, skal resultaterne med patientprøverne også anses for ugyldige.

Uforklarede uoverensstemmelser i kontrolresultater skal straks rapporteres til den lokale supportrepræsentant. Hvis resultaterne af kvalitetskontrol ikke overholder specifikationerne, er patientresultaterne ugyldige. Årsagen skal identificeres og korrigeres, hvorefter patientprøverne skal gentages.

FORTOLKNING AF FARVNINGEN / FORVENTEDE RESULTATER

Alcian Blue for PAS, i kombination med PAS Stain Core Kit eller PAS Staining Kit, testes for at påvise sure og neutrale muciner.

- Sure muciner: blå
- Neutrale muciner: magenta
- Kerner: lilla

SPECIFIKKE BEGRÆNSNINGER

Til denne analyse er der kun anvendt og valideret positivt ladede mikroskopobjektglas.

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

ANALYTISK YDEEVNE

Farvningsprøver for sensitivitet, specificitet og præcision blev udført, og resultaterne er anført nedenfor.

Sensitivitet og specificitet

Den analytiske sensitivitet og specificitet for tilfælde med normalt og sygt væv blev evalueret i kombination med PAS Stain Core Kit og PAS Staining Kit. Alle evaluerede tilfælde (71/71 med PAS Stain Core Kit og 93/93 med PAS Staining Kit) bestod med en acceptabel farvning som vist i Tab. 3 og Tab. 4.

Tab. 3. Sensitivitet/specificitet for Alcian Blue for PAS blev bestemt ud fra test af de følgende normale FFPE-væv.

Væv	PAS Stain Core Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde	PAS Staining Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde
Colon	6/6	6/6
Tyndtarm	10/10	9/9
Øsofagus	6/6	7 /7
Mavesæk	6/6	9/9
Hud	6/6	15/15
Spytktitel	6/6	11/11

Tab. 4. Sensitivitet/specificitet for Alcian Blue for PAS blev bestemt ud fra test af de følgende syge FFPE-væv.

Væv	PAS Stain Core Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde	PAS Staining Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde
Barretts øsofagus	17/17	11/11
Tarmmetaplasi (øsofagus)	7/7	16/16
Tarmmetaplasi (mavesæk)	7/7	9/9

Præcision

Præcisionen af Alcian Blue PAS blev bestemt ved samtidig brug af PAS Stain Core Kit og PAS Staining Kit på tværs af adskillige kørsler, dage, instrumenter og reagenslot ved hjælp af en række objektglas med 3 vævssnit fra normal colon og 3 vævssnit fra normal tyndtarm. Alle godkendelseskriterier blev opfyldt fuldt ud. Der blev udført præcisionsundersøgelser i henhold til Tab. 5.

Tab. 5. Præcisionsundersøgelser på objektglas til Alcian Blue for PAS.

Testparametre	Antal tilstande	PAS Stain Core Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde	PAS Staining Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde
Mellem kørsler	3 kørsler, samme dag	54/54	54/54
Mellem dage	5 dage	90/90	90/90
Mellem instrumenter	3 instrumenter	54/54	54/54
Inden for samme kørsel	samme dag, samme instrument	54/54	54/54

Testparametre	Antal tilstande	PAS Stain Core Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde	PAS Staining Kit Antal beståede tilfælde/antal testede tilfælde
Mellem lot	3 lot	54/54	54/54

FEJLFINDING

1. Vævssnittenes tykkelse kan have indflydelse på farvningens kvalitet og intensitet. Hvis farvningen er utilstrækkelig, bedes du kontakte din lokale supportrepræsentant.
2. Nekrotisk eller autolyseret væv kan udvise uspecifik farvning.
3. Hvis den positive vævskontrol er negativ, kan vævet være forkert indsamlet, fikseret eller afparaffineret. Følg den korrekte procedure for indsamling, opbevaring og fiksering.
4. Hvis den positive kontrol er negativ, skal du kontrollere, om objektglasset har den rigtige strekkodemærkning. Hvis objektglasset er mærket korrekt, skal du kontrollere de øvrige positive kontroller fra samme kørsel for at be- eller afkræfte, om kontrollerne er farvet tilfredsstillende.
5. I tilfælde af for kraftig baggrundsfarvning kan det skyldes utilstrækkelig paraffinjernelse, hvilket medfører farvningsartefakter eller helt manglende farvning. Hvis al paraffin ikke fjernes fra objektglasset, skal farvekørslen gentages ved hjælp af den udvidede afparaffineringsfunktion, hvis den er tilgængelig.
6. Hvis vævssnittene skylles af objektglasset, skal du kontrollere, om objektglassene er positivt ladede.
7. Hvis objektglassene befinder sig i længere tid på instrumentet efter afslutning af kørslen, kan det påvirke farvningens kvalitet og intensitet. Hvis farvningen er utilstrækkelig, skal du straks fjerne objektglassene ved slutningen af kørslen og fortsætte med efterbehandling uden for instrumentet.
8. Læs mere om afhjælpning i afsnittet Brugervejledning i instrumentets brugsanvisning, eller kontakt din lokale supportrepræsentant.

REFERENCER

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.

BEMÆRK: Der anvendes altid et punktum i dette dokument som decimaltegn til markering af grænsen mellem det hele tal og de efterfølgende decimaler. Der anvendes ikke tusindtalsseparatorer.

Symboler

Ventana bruger følgende symboler og tegn ud over dem, der er anført i ISO 15223-1-standard (for USA: Se elabdoc.roche.com/symbols for yderligere oplysninger).



GTIN (Global Trade Item Number (globalt vareidentifikationsnummer))

Rx only

For USA: Forsigtig: Ifølge amerikansk føderal lovgivning må dette udstyr kun sælges af eller efter ordination fra en læge.

REVISIONSHISTORIK

Rev	Opdateringer
H	Opdateret for at tilføje PAS Stain Core Kit til afsnittene Tilsluttet anvendelse, Resumé og forklaring, Procedurens princip, Nødvendige materialer, som ikke medfølger, Anbefalet protokol, Fortolkning af farvningen/forventede resultater og Analytisk ydeevne. Opdatering af den aktuelle skabelon. Figur 1 opdateret.

OPHAVSRET

VENTANA, BENCHMARK og VENTANA HE er varemærker tilhørende Roche. Alle andre produktnavne og varemærker tilhører deres respektive ejere.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTOPLYSNINGER



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

