

## Alcian Blue for PAS

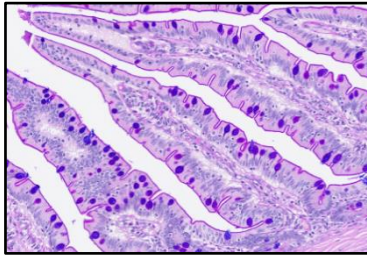
REF

860-003

05279194001

IVD

Σ 75



**Figura 1. Coloração de tecido de intestino delgado com Alcian Blue for PAS em conjunto com PAS Stain Core Kit.**

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Alcian Blue for PAS, em conjunto com PAS Staining Kit OU com PAS Stain Core Kit, destina-se a ser utilizado no laboratório como corante histológico qualitativo para fazer a diferenciação entre mucinas ácidas e neutras através de microscopia ótica em secções de tecido fixado em formol e impregnado em parafina (FFPE) num instrumento BenchMark Special Stains.

Este produto deverá ser interpretado por um patologista qualificado, em conjunto com um exame histológico, a

informação clínica relevante e os controlos adequados.

Este produto destina-se a utilização em diagnóstico in vitro (IVD).

### RESUMO E EXPLICAÇÃO

Alcian Blue for PAS é um kit num frasco único que é utilizado em conjunto com um kit PAS VENTANA (PAS Stain Core Kit ou PAS Staining Kit). Os kits PAS VENTANA baseiam-se na primeira utilização histoquímica desta técnica descrita originalmente por McManus em 1946, que permite visualizar mucinas, glicogénio, membranas basais e organismos fúngicos através da combinação da oxidação de polissacáridos com Periodic Acid e da coloração com o reagente de Schiff.<sup>1</sup>

As mucinas são um componente chave das células caliciformes e das células epiteliais mucosais intestinais, cuja função consiste em sintetizar e segregar muco.<sup>2</sup> As células caliciformes normalmente encontram-se nas células epiteliais secretoras dos intestinos delgado e grosso e estão geralmente ausentes do esófago ou do estômago.<sup>3</sup>

Alcian Blue for PAS é utilizado para ajudar o patologista a identificar as células caliciformes. A presença de células caliciformes no esófago e no estômago é anormal, pelo que o corante ajuda o patologista a fazer o diagnóstico da metaplasia intestinal e do esófago de Barrett.

### PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Os kits PAS VENTANA utilizam o reagente Periodic Acid para oxidar os glicóis em aldeídos. O reagente de Schiff forma um composto dialdeído incolor, que é transformado na coloração magenta dos componentes celulares que contêm glicol.<sup>4</sup> As propriedades químicas de Alcian Blue ativam o corante para detetar mucinas fracamente ácidas em células caliciformes. Alcian Blue for PAS, com um pH de 2,5, cora os mucopolissacáridos a azul.<sup>5</sup>

Este kit foi otimizado para ser utilizado em instrumentos BenchMark Special Stains. Os reagentes são aplicados no tecido em lâminas de microscópio e homogeneizados sobre toda a amostra.

### MATERIAIS FORNECIDOS

O frasco de reagente é fornecido numa transportadora marcada com códigos de barras para ser inserido no tabuleiro de reagentes do instrumento. Cada kit contém reagentes suficientes para 75 testes:

Um frasco de 22 mL de Alcian Blue contém aproximadamente 1.2% de azul de alcian numa solução de ácido acético a 3%.

Uma inserção de frasco com tubo de imersão.

### Reconstituição, homogeneização, diluição, titulação

Não é necessária qualquer reconstituição, homogeneização, diluição ou titulação dos reagentes do kit. A diluição adicional de qualquer um dos reagentes poderá resultar numa coloração não satisfatória.

Os reagentes deste kit foram diluídos de forma otimizada para serem utilizados em instrumentos BenchMark Special Stains.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os produtos indicados na folha de métodos podem não estar todos disponíveis em todas as regiões. Consulte o seu representante de assistência local.

Os seguintes reagentes e materiais podem ser necessários para a coloração, mas não são fornecidos:

1. Tecido de controlo recomendado
2. Lâminas de microscópio carregadas positivamente
3. Instrumento BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (Ref. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (Ref. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (Ref. 860-041 / 08309817001)
7. Um kit PAS VENTANA
  - a. PAS Stain Core Kit (Ref. 860-048 / 09328823001) e Special Stains Hematoxylin (Ref. 860-071 / 09149457001)
  - b. PAS Staining Kit (Ref. 860-014 / 05279291001)
8. Equipamento de laboratório de uso genérico

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Alcian Blue for PAS deve ser conservado a 15-30 °C.

Quando corretamente conservados, os reagentes fechados e abertos permanecem estáveis até à data indicada na etiqueta. Não utilizar o reagente depois de ultrapassada a data de validade indicada no kit.

Não existem quaisquer sinais óbvios que indiquem a instabilidade destes reagentes; como tal, os controlos deverão ser executados simultaneamente com as amostras desconhecidas. Contacte o representante de assistência local se o material de controlo positivo apresentar uma diminuição da coloração, porque isso pode indicar instabilidade do reagente.

### PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

São necessários tecidos FFPE para utilização com este produto e instrumentos BenchMark Special Stains. O fixador de tecido recomendado é o formol neutro tamponado a 10%.<sup>4</sup>

Realize a colheita e o armazenamento das amostras de acordo com o documento Histotechnology: A Self Instructional Text.<sup>4</sup> Corte secções com a espessura apropriada, que é aproximadamente 4 µm, e coloque as secções sobre lâminas de vidro carregadas positivamente.

1. Seque as lâminas.<sup>4</sup>
2. Imprima a(s) etiqueta(s) de código(s) de barras apropriada(s).
3. Aplique as etiquetas de códigos de barras na extremidade fosca das lâminas antes de carregar as lâminas no instrumento (consulte o Manual do utilizador do instrumento para saber como aplicar corretamente as etiquetas).

Consulte a secção Instruções de utilização para saber qual é o protocolo recomendado para o instrumento BenchMark Special Stains.

### AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Para utilização em diagnóstico in vitro (IVD).
2. Apenas para utilização profissional.
3. Não utilizar num número de testes superior ao especificado.
4. As lâminas carregadas positivamente podem ser suscetíveis a pressões ambientais que podem ter como consequência uma coloração inadequada. Contacte o representante da Roche para mais informações sobre como utilizar estes tipos de lâminas.
5. Os materiais de origem humana ou animal devem ser manuseados como materiais que envolvem risco de contaminação e eliminados adotando as devidas precauções. Em caso de exposição, devem ser seguidas as diretivas de saúde das autoridades responsáveis.<sup>6,7</sup>
6. Evite o contacto dos reagentes com os olhos e as membranas mucosas. Se os reagentes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância.

- Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois tal poderá dar origem a resultados incorretos.
- Para mais informações acerca da utilização deste dispositivo, consulte o Manual do utilizador do instrumento BenchMark Special Stains, bem como as instruções de utilização de todos os componentes necessários em [navifyportal.roche.com](http://navifyportal.roche.com).
- Consulte as autoridades locais e/ou estatais no que se refere ao método de eliminação recomendado.
- A etiquetagem de segurança do produto segue principalmente as diretrizes do GHS da UE. Ficha de dados de segurança disponível para utilizadores profissionais a pedido.
- Para reportar situações graves suspeitas relacionadas com este dispositivo, contacte o representante local da Roche e a autoridade competente do Estado-Membro ou do País onde o utilizador está estabelecido.

## INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

### Preparar frasco de reagente

Antes da primeira utilização, deverá ser colocada no frasco de reagente uma inserção com tubo de imersão para frasco.

Retire a tampa de proteção do frasco e coloque a inserção e o tubo de imersão no frasco. A inserção e o tubo de imersão deverão ser deixados dentro do frasco depois de este ser aberto.

### Procedimento de coloração

- Carregue os reagentes e as lâminas no instrumento.
- Introduza a tampa mole na ranhura existente no suporte de reagentes quando o reagente estiver a ser utilizado.
- Execute o processo de coloração de acordo com o protocolo recomendado na Tabela 1 ou na Tabela 2 e nas instruções do Manual do utilizador.
- Quando o ensaio estiver concluído, remova as lâminas do instrumento.
- Utilize a tampa mole para cobrir o frasco de reagente quando o reagente não estiver a ser utilizado.
- Após a utilização, conserve os reagentes de acordo com as condições de conservação recomendadas.

### Protocolo recomendado

Os parâmetros para os procedimentos automáticos podem ser apresentados, impressos e editados de acordo com o procedimento contido no Manual do utilizador do instrumento.

Os procedimentos que se seguem são suficientemente flexíveis para permitir que sejam aplicadas as preferências do utilizador. Este produto foi otimizado para utilização com instrumentos BenchMark Special Stains, mas o utilizador tem de validar os resultados obtidos com este produto.

**Tabela 1.** Protocolo de coloração recomendado para Alcian Blue for PAS com PAS Stain Core Kit e Special Stains Hematoxylin num instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimento de coloração	S PAS Alcian Blue
Passo do Protocolo	Método
<b>Desparafinação</b>	Selecione a remoção automática de parafina
<b>Cozedura (opcional)</b>	A predefinição é não estar selecionada. Recomendados 75 °C durante 4 minutos.
<b>Diastase*</b>	Não selecionada. O utilizador terá de validar esta opção.

Procedimento de coloração	S PAS Alcian Blue
Passo do Protocolo	Método
<b>Optimize Alcian Blue Intensity (Alcian Blue)</b>	<p>A predefinição são 8 minutos a 37 °C.</p> <p>Selecione para ativar o ajuste do tempo de incubação e a temperatura.</p> <p>Selecione uma temperatura de incubação de 37 °C a 60 °C: 37 °C, coloração mais clara das mucinas 60 °C, coloração mais escura das mucinas</p> <p>Selecione um tempo de incubação de 8 a 16 minutos: 8 minutos, coloração mais clara das mucinas 16 minutos, coloração mais escura das mucinas</p>
<b>Optimize PAS</b>	<p>A predefinição é Periodic Acid durante 4 minutos, Schiff's A + Schiff's B durante 12 minutos, a 37 °C.</p> <p>Selecione para ativar o ajuste do tempo de incubação e a temperatura.</p> <p>Selecione uma temperatura de incubação de 37 °C a 60 °C: 37 °C, coloração mais clara das mucinas 60 °C, coloração mais escura das mucinas</p> <p>Selecione um tempo de incubação de Periodic Acid entre 4 e 20 minutos: 4 minutos, coloração mais clara das mucinas 20 minutos, coloração mais escura das mucinas</p> <p>Escolha um tempo de incubação de Schiff's A + Schiff's B de 8 a 20 minutos: 8 minutos, coloração mais clara das mucinas 20 minutos, coloração mais escura das mucinas</p>
<b>Optimize Hematoxylin Intensity</b>	<p>A predefinição são 4 minutos.</p> <p>Selecione para ativar o ajuste do tempo de incubação: Sem Hematoxylin 4 minutos, coloração nuclear mais clara 12 minutos, coloração nuclear mais escura</p>

\*Está disponível uma opção de procedimento adicional para produtos que podem ser utilizados em conjunto com PAS Stain Core Kit e Alcian Blue for PAS.

\*\*Para ajustar as preferências de coloração, aumente a temperatura da coloração e o tempo de incubação um parâmetro de cada vez.

**Tabela 2.** Protocolo de coloração recomendado para Alcian Blue for PAS com PAS Staining Kit num instrumento BenchMark Special Stains.

Procedimento de coloração	S PAS
Passo do Protocolo	Método
<b>Desparafinação</b>	Selecione a remoção automática de parafina

Procedimento de coloração	S PAS
Passo do Protocolo	Método
<b>Cozedura (opcional)</b>	A predefinição é não estar selecionada. Recomendados 75 °C durante 4 minutos.
<b>Alcian Blue</b>	A predefinição é não estar selecionada. Selecione para ativar as opções Alcian Blue e Alcian Blue for PAS.
<b>Diastase for PAS AB* (opcional)</b>	Não selecionada. O utilizador terá de validar esta opção.
<b>Optimize Stain Intensity (PAS Alcian Blue)</b>	A predefinição são 8 minutos. Selecione para ativar o ajuste da intensidade da coloração.** Selecione um tempo de incubação de 8 a 16 minutos: 8 minutos, coloração mais clara das mucinas 16 minutos, coloração mais escura das mucinas
<b>Hematoxylin for Alcian Blue (opcional)</b>	A predefinição é não estar selecionada. Selecione para ativar a aplicação de Hematoxylin. Selecione Optimize Hematoxylin Intensity para ativar o ajuste do tempo de incubação de Hematoxylin.
<b>Optimize Hematoxylin Intensity (PAS Hematoxylin)</b>	A predefinição são 4 minutos. Selecione para ativar o ajuste do tempo de incubação: 4 minutos, coloração nuclear mais clara 12 minutos, coloração nuclear mais escura

\*Está disponível uma opção de procedimento adicional para produtos que podem ser utilizados em conjunto com PAS Staining Kit e Alcian Blue for PAS.

\*\*Para ajustar as preferências de coloração, aumente a temperatura da coloração e o tempo de incubação um parâmetro de cada vez.

#### Processamento pós-instrumento recomendado

1. Desidrate as lâminas em duas mudas de etanol a 95% para remover a solução restante, seguidas de três mudas de etanol a 100%.
2. Limpe as lâminas em 3 mudas de xileno a 100%.
3. Coverslip com meio de montagem permanente.
4. Compatível com o protocolo de aplicação de coverslips do sistema VENTANA HE 600. Para obter mais instruções, consulte o Manual do utilizador do sistema VENTANA HE 600.

#### PROCEDIMENTO DE CONTROLO DE QUALIDADE

Um exemplo de material de controlo positivo seria tecido humano FFPE com presença de mucinas ácidas e neutras (cólon, intestino delgado ou glândulas salivares). O tecido de controlo deverá ser uma amostra recém-colhida de autópsia, biopsia ou cirurgia, preparada ou fixada o mais cedo possível e de forma idêntica à das secções de teste. Este tipo de tecidos deve servir para monitorizar todas as etapas da análise, desde a preparação do tecido até à coloração.

A utilização de uma secção de tecido fixada ou processada de forma diferente da amostra do teste permite um controlo apropriado de todos os reagentes e etapas do método, excetuando a fixação e o processamento de tecidos.

Os componentes celulares de outros elementos tecidulares podem servir de controlo negativo.

A prática laboratorial ideal deve incluir uma secção de controlo positivo na mesma lâmina que contém o tecido de teste. Isto ajuda a identificar quaisquer falhas na aplicação dos

reagentes na lâmina. O tecido de controlo poderá conter elementos de coloração positiva e negativa e servir como controlo positivo e negativo.

O tecido de controlo tem de ser testado com cada ensaio.

Os controlos tecidulares positivos conhecidos devem ser utilizados apenas para monitorizar o correto desempenho de tecidos processados e de reagentes de teste e não para auxiliar na formulação de um diagnóstico específico de amostras de pacientes.

Se os componentes tecidulares positivos não demonstrarem uma coloração positiva, os resultados das amostras de teste deverão ser considerados inválidos. Se os componentes negativos demonstrarem coloração positiva, os resultados obtidos com as amostras de pacientes deverão também ser considerados inválidos.

Quaisquer discrepâncias inexplicáveis nos resultados dos controlos deverão ser imediatamente comunicadas ao representante de assistência local. Se os resultados do controlo de qualidade não estiverem em conformidade com as especificações, os resultados dos pacientes são inválidos. A causa desta situação terá de ser identificada e corrigida, e as amostras de pacientes repetidas.

#### INTERPRETAÇÃO DA COLORAÇÃO/RESULTADOS PREVISTOS

Alcian Blue for PAS, em conjunto com PAS Stain Core Kit ou PAS Staining Kit, é testado para evidenciar mucinas ácidas e neutras.

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

#### LIMITAÇÕES ESPECÍFICAS

Foram utilizadas e validadas para este ensaio apenas lâminas de microscópio carregadas positivamente.

#### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

##### DESEMPENHO ANALÍTICO

Foram realizados testes de coloração para sensibilidade, especificidade e precisão e os resultados estão listados abaixo.

##### Sensibilidade e especificidade

Foram avaliadas a sensibilidade e especificidade analíticas de casos de tecidos normais e patológicos em conjunto com PAS Stain Core Kit e PAS Staining Kit. Todos os casos de tecidos avaliados (71/71 com PAS Stain Core Kit e 93/93 com PAS Staining Kit) passaram no que diz respeito à coloração aceitável, como se pode ver na Tabela 3 e na Tabela 4.

**Tabela 3.** A sensibilidade/especificidade de Alcian Blue for PAS foi determinada testando os seguintes tecidos normais FFPE.

Tecido	PAS Stain Core Kit N.º de casos que passaram/N.º testados	PAS Staining Kit N.º de casos que passaram/N.º testados
Cólon	6/6	6/6
Intestino delgado	10/10	9/9
Esófago	6/6	7/7
Estômago	6/6	9/9
Pele	6/6	15/15
Glândula salivar	6/6	11/11

**Tabela 4.** A sensibilidade/especificidade de Alcian Blue for PAS foi determinada testando os seguintes tecidos patológicos FFPE.

Tecido	PAS Stain Core Kit N.º de casos que passaram/N.º testados	PAS Staining Kit N.º de casos que passaram/N.º testados
Esófago de Barrett	17/17	11/11

Tecido	PAS Stain Core Kit N.º de casos que passaram/N.º testados	PAS Staining Kit N.º de casos que passaram/N.º testados
Metaplasia intestinal (esófago)	7/7	16/16
Metaplasia intestinal (estômago)	7/7	9/9

### Precisão

A precisão de Alcian Blue for PAS foi determinada em conjunto com PAS Stain Core Kit e PAS Staining Kit em vários ensaios, dias, instrumentos e lotes de reagentes, utilizando várias lâminas com cortes de 3 casos de tecido de cólon normal e 3 casos de tecido de intestino delgado normal. Todos os critérios de aceitação foram cumpridos integralmente. Foram realizados estudos de precisão de acordo com a Tabela 5.

Tabela 5. Estudos de lâmina de precisão de Alcian Blue for PAS.

Parâmetros testados	N.º de condições	PAS Stain Core Kit N.º de casos que passaram/N.º testados	PAS Staining Kit N.º de casos que passaram/N.º testados
De ensaio para ensaio	3 ensaios, mesmo dia	54/54	54/54
De dia para dia	5 dias	90/90	90/90
De instrumento para instrumento	3 instrumentos	54/54	54/54
Intraensaio	mesmo dia, mesmo instrumento	54/54	54/54
De lote para lote	3 lotes	54/54	54/54

### RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

- A espessura da secção pode afetar a qualidade e a intensidade da coloração. Se a coloração não for a apropriada, contacte o representante de assistência local para obter assistência.
- O tecido necrótico ou autolisado poderá exibir uma coloração não específica.
- Se o controlo positivo for negativo, o tecido pode ter sido colhido, fixado ou desparafinado de forma incorreta. Siga o procedimento correto de colheita, conservação e fixação.
- Se o controlo positivo for negativo, verifique se a lâmina tem a etiqueta de código de barras correta. Se a lâmina estiver etiquetada de forma correta, verifique os outros controlos positivos do mesmo ensaio, para determinar se foram corados corretamente.
- Se ocorrer coloração de fundo excessiva: a remoção incompleta da parafina pode causar artefactos de coloração ou ausência de coloração. Se a parafina não for toda removida da lâmina, repita o processo de coloração utilizando a opção de desparafinação alargada, caso esteja disponível.
- Se as secções de tecido saírem da lâmina, verifique se as lâminas estão carregadas positivamente.
- A estadia prolongada das lâminas no instrumento depois da conclusão do ensaio pode afetar a qualidade e a intensidade da coloração. Se a coloração não for a apropriada, retire prontamente as lâminas no final do ensaio e avance para o processamento pós-instrumento.
- Para aplicar uma ação corretiva, consulte a secção Instruções de utilização, o Manual do utilizador do instrumento ou contacte o representante de assistência local.

### REFERÊNCIAS

- 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:** Neste documento, é sempre utilizado o ponto como separador decimal para marcar o limite entre a parte inteira e as partes fracionais de um número decimal. Não são utilizados separadores de milhares.

### Símbolos

Ventana utiliza os seguintes símbolos e sinais, além dos listados na norma ISO 15223-1 (para os EUA: consultar [elabdoc.roche.com/symbols](http://elabdoc.roche.com/symbols) para mais informações).



Número Global de Item Comercial

Rx only

Para os EUA: Advertência: A Lei Federal dos EUA restringe a venda deste dispositivo a um médico ou mediante receita médica.

### HISTÓRICO DE REVISÕES

Rev	Atualizações
H	Foram efetuadas atualizações para adicionar PAS Stain Core Kit às secções Utilização pretendida, Resumo e explicação, Princípio do procedimento, Materiais necessários, mas não fornecidos, Protocolo recomendado, Interpretação da coloração/resultados previstos e Desempenho analítico. Foi atualizado o modelo atual. A Figura 1 foi atualizada.

### PROPRIEDADE INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK e VENTANA HE são marcas comerciais da Roche. Todos os restantes nomes de produtos e marcas comerciais são propriedade dos respetivos titulares.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

## INFORMAÇÕES 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

