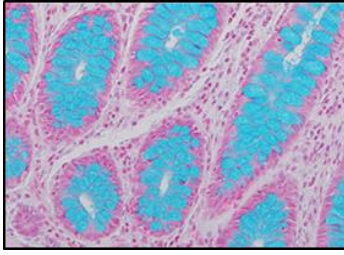


Alcian Blue Staining Kit

REF

860-002

05279186001

IVD
 75


Şekil 1. Kolon dokusunun Alcian Blue Staining Kit ile boyanması

kullanıma yöneliktir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

Mukopolisakkaritler (müsünler), işlevi mukus sentezlemek ve salgılamak olan goblet hücrelerinin, bağırsak mukozal epitelyal hücrelerinin önemli bir bileşenidir.¹ Goblet hücreleri normalde ince ve kalın bağırsakların epitelinde bulunur ve genellikle özofagus veya midede bulunmaz.²

Alcian Blue kimyasal özellikleri, boyanın goblet hücrelerindeki zayıf asidik müsünleri saptamasını sağlar. Asidik, ancak nötr olmayan müsünlerin polisakkaritleri, pH 2.5'te boya ile maviye boyanır.^{3,4}

Alcian Blue Staining Kit, goblet hücrelerinin tanımlanmasında patoloğa yardımcı olmak için kullanılır. Özofagus ve midede goblet hücrelerinin varlığı anormaldir ve boyama, bağırsak metaplazisi ve Barrett özofagusu tanısında patoloğa yardımcı olur.

PROSEDÜR PRENSİBİ

Boyama reaksiyonu, pH değeri 2.5 olan Alcian Blue ve polianyonik bileşiklerin reaksiyonuna dayanır. Alcian Blue, mavi rengini katyonik çözücü ajanlarla modifiye edilmiş bakır ftalosiyenin grubundan alan, polivalan, bazik, suda çözünür bir boyadır.^{3,5} Bu reaksiyon sırasında, Alcian Blue ve asit mukopolisakkaritlerin asit grupları arasında tuz bağları oluşur ve bu grupları maviye boyar. Nuclear Fast Red Counterstain, pembe kontrastlı bir arka plan sağlamak için uygulanır.

Bu kit, BenchMark Special Stains cihazlarında kullanılmak üzere optimize edilmiştir. Reaktifler, mikroskop slaytları üzerindeki dokuya uygulanır ve numunenin tamamı üzerinde karıştırılır.

ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN MALZEME

Reaktif flakonları, cihazın reaktif tepsisine yerleştirilmek üzere barkod etiketli taşıyıcılar içinde temin edilir. Her kit, 75 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 22 mL'lik Alcian Blue flakonu, %3 asetik asit çözeltisi içinde %1.2 alsiyan mavisini içerir.

Bir adet 22 mL'lik Nuclear Fast Red Counterstain flakonu yaklaşık %0.2 nükleer hızlı kırmızı ve yaklaşık %5 alüminyum sülfat içerir.

Emme çubukları ile iki adet flakon parçası.

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon

Kit reaktiflerinde sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekmez. Herhangi bir reaktifin daha fazla seyreltilmesi yetersiz boyamaya yol açabilir.

Bu kitte bulunan reaktifler, BenchMark Special Stains cihazlarında kullanılmak üzere optimum şekilde seyretilmiştir.

GEREKLİ OLAN FAKAT ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MALZEMELER

Yöntem tablosunda listelenen ürünlerin hepsi tüm bölgelerde mevcut olmayabilir. Yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

Aşağıda yer alan reaktifler ve malzemeler boyama için gerekli olabilir fakat ürünle birlikte verilmez:

1. Önerilen kontrol dokusu
2. Mikroskop slaytları, pozitif yüklü
3. BenchMark Special Stains cihazı
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (Kat. No. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (Kat. No. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (Kat. No. 860-041 / 08309817001)
7. Genel amaçlı laboratuvar ekipmanı

SAKLAMA VE STABİLİTE

Alcian Blue Staining Kit, 15-30 °C'de saklanmalıdır.

Düzgün bir şekilde saklanması halinde, açılmamış ve açılmış reaktifler etikette belirtilen tarihe kadar stabil kalır.

Reaktifi kit üzerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

Bu reaktiflerde instabiliteyi gösterecek belirgin işaretler yoktur; dolayısıyla bilinmeyen numunelerle eş zamanlı olarak kontroller çalıştırılmalıdır. Pozitif kontrol materyali boyamada azalma gösteriyorsa yerel destek temsilcinizle iletişime geçin çünkü bu durum reaktif instabilitesine işaret ediyor olabilir.

NUMUNE HAZIRLAMA

Bu ürün ve BenchMark Special Stains cihazlarıyla kullanım için rutin olarak FFPE dokular gereklidir. Önerilen doku sabitleyici %10 nötr tamponlu formalindir.⁶

Numune alma ve saklama işlemini Histotechnology: A Self Instructional Text kitabı doğrultusunda gerçekleştirin.⁶ Yaklaşık 4 µm olmak üzere uygun kalınlıkta kesitler çıkarın ve kesitleri pozitif yüklü cam slaytlar üzerine yerleştirin.

1. Slaytları kurutun.⁶
2. Uygun barkod etiketlerini yazdırın.
3. Slaytları cihaza yüklemeden önce barkod etiketlerini slaytların buzlu ucuna uygulayın (etiketlerin doğru şekilde uygulanması için cihazın Kullanıcı Kılavuzuna bakın).

BenchMark Special Stains cihazı için önerilen protokole yönelik Kullanım Talimatları kısmına bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. İn vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.
2. Sadece profesyonel kullanım içindir.
3. **DİKKAT:** Amerika Birleşik Devletleri'nde, Federal yasa bu cihazın satışını bir doktora veya doktor siparişiyle yapılacak şekilde sınırlamaktadır. (Rx Only).
4. Belirtilen test sayısının üzerinde kullanmayın.
5. Pozitif yüklü slaytlar, uygun olmayan boyamaya yol açan çevresel streslere yatkın olabilir. Bu tür slaytların kullanımı hakkında daha fazla bilgi almak için Roche temsilcinize danışın.
6. İnsan veya hayvan kaynaklı materyaller, biyotehlikeli materyaller oldukları varsayılarak kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak atılmalıdır. Maruz kalma durumunda, sorumlu otoritelerin sağlık direktifleri izlenmelidir.^{7,8}
7. Reaktiflerin göz ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Reaktifler hassas bölgelerle temas ederse bu bölgeleri bol suyla yıkayın.
8. Yanlış sonuçlar alınmasına neden olabileceği için reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmasını önleyin.
9. Bu cihazın kullanımı hakkında daha fazla bilgi için BenchMark Special Stains cihazı Kullanıcı Kılavuzuna ve tüm gerekli bileşenlerin navifyportal.roche.com adresinde bulunan kullanım talimatlarına bakın.
10. Önerilen imha yöntemleri hakkında bilgi almak için yerel ve/veya resmi kurumlara danışın.
11. Ürün güvenliği etiketi, öncelikli olarak EU GHS yönergelerini izler. Güvenlik bilgi formu profesyonel kullanıcı için talep üzerine temin edilir.

12. Bu cihazla ilgili şüphelenilen ciddi olayları raporlamak için yerel Roche temsilcisi ve kullanıcının bulunduğu Üye Devlet veya Ülkenin yetkili makamıyla iletişime geçin.

Bu ürün, Düzenleme (EC) No. 1272/2008 uyarınca aşağıdaki şekilde sınıflandırılan bileşenler içermektedir:

Tablo 1. Tehlike bilgileri.

Tehlike	Kod	Beyan
	H290	Metaller için aşındırıcı olabilir.
	H318	Ciddi göz hasarına neden olur.
	P234	Yalnızca orijinal ambalajında saklayın.
	P280	Koruyucu gözlük/yüz koruması kullanın.
	P305+ P351+ P338+ P310	GÖZ İLE TEMASI HALİNDE: Su ile birkaç dakika boyunca dikkatlice yıkayın. Varsa ve çıkarması kolaysa lenslerinizi çıkarın. Yıkamaya devam edin. Hemen bir ZEHİR MERKEZİ'ni/doktoru arayın.
	P390	Maddi hasarı önlemek için dökülen malzemeyi emdirin.

KULLANIM TALİMATLARI

Reaktif Flakonunu Hazırlama

İlk kullanımdan önce, reaktif flakonu içine bir flakon parçası ve emme çubuğu yerleştirilmelidir.

Nakliye kapağını flakondan çıkarın ve parça ile çubuğu flakon içine yerleştirin. Flakon açıldıktan sonra, parça ile emme çubuğu flakon içinde bırakılmalıdır.

Boyama Prosedürü

1. Reaktifleri ve slaytları cihaza yükleyin.
2. Reaktif kullanımdayken yumuşak kapağı reaktif tutucu üzerindeki yuvaya yerleştirin.
3. Boyama işlemini, Tablo 2 üzerinde gösterilen önerilen protokol ve Kullanıcı Kılavuzu içindeki talimatlar doğrultusunda gerçekleştirin.
4. İşlem tamamlandığında slaytları cihazdan çıkarın.
5. Reaktifin kullanılmadığı zamanlarda reaktif flakonunun üzerini kapatmak için yumuşak kapağı kullanın.
6. Kullanımdan sonra reaktifleri önerilen saklama koşullarına göre saklayın.

Önerilen Protokol

Otomatik prosedürlere ilişkin parametreler, cihazın Kullanıcı Kılavuzundaki prosedüre göre görüntülenebilir, yazdırılabilir ve düzenlenebilir.

Aşağıdaki prosedürler, kullanıcı tercihiye uygun esneklik sağlar. Bu ürün, BenchMark Special Stains cihazlarıyla kullanım için optimize edilmiştir ancak kullanıcı, bu ürünle elde edilen sonuçları doğrulamalıdır.

Tablo 2. BenchMark Special Stains cihazında Alcian Blue Staining Kit için önerilen boyama protokolü.

Boyama Prosedürü	S Alcian Blue Staining Kit
Protokol Basamağı	Yöntem
Deparafinizasyon	Parafin gidermeyi otomatik hale getirmek için seçin.
Fırınlama (isteğe bağlı)	Varsayılan seçili değildir. 4 dakika boyunca 75 °C önerilir.
Optimize Boyama Yoğunluğu (Alcian Blue)	Varsayılan süre 8 dakikadır. Boyama yoğunluğunun ayarlanmasını etkinleştirmek için seçin: * 4 ile 20 dakika arasında bir inkübasyon süresi seçin: 4 dakika, daha açık mavi boyama 20 dakika, daha koyu mavi boyama

Boyama Prosedürü	S Alcian Blue Staining Kit
Protokol Basamağı	Yöntem
Optimize Karşıt Boya Yoğunluğu (Alcian Blue NFR)	Varsayılan süre 4 dakikadır. Karşıt boya yoğunluğunun ayarlanmasını etkinleştirmek için seçin: * 4 ile 16 dakika arasında bir inkübasyon süresi seçin: 4 dakika, daha açık karşıt boya 16 dakika, daha koyu karşıt boya

* Boyama tercihlerini ayarlamak için boya sıcaklığını ve inkübasyon süresini her seferinde birer parametre artırın.

Önerilen Cihaz Sonrası İşleme Prosedürü

1. Kalan çözeltiyi gidermek için slaytları iki kez %95 etanol ile dehidre edin, ardından üç kez %100 etanol ile dehidre edin.
2. Slaytları 3 kez %100 ksilen ile temizleyin.
3. Kalıcı sabitleme ortamı ile lamel yerleştirin.

VENTANA HE 600 sistemi lamel yerleştirme protokolü ile uyumludur. Daha fazla talimat için VENTANA HE 600 sistemi Kullanıcı Kılavuzuna bakın.

KALİTE KONTROL PROSEDÜRÜ

Pozitif kontrol materyalinin bir örneği de, kolon veya ince bağırsak gibi asit münşinleri veya asit mukopolisakkaritleri bulunan FFPE insan dokusudur. Kontrol dokusu, test kesitleriyle aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede hazırlanmış veya sabitlenmiş taze otopsi, biyopsi veya cerrahi numunesi olmalıdır. Bu gibi dokular, doku hazırlığından boyamaya kadar analizin tüm adımlarını izlemelidir.

Test numunesinden farklı şekilde sabitlenmiş veya işlenmiş bir doku kesitinin kullanılması, tüm reaktifler ve fiksasyon ile doku işleme hariç yöntem adımları için kontrol sağlar. Diğer doku elemanlarının selüler bileşenleri negatif kontrol görevi görebilir.

Uygun laboratuvar uygulamaları, test dokusuyla aynı slayt üzerinde pozitif kontrol kesiti içermektedir. Bu, slayta reaktif uygulamadaki hataları belirlemeye yardımcı olur. Kontrol dokusu, hem pozitif hem de negatif boyama elementleri içerebilir ve hem pozitif hem de negatif kontrol olarak görev yapabilir.

Kontrol dokusu her işlemden önce test edilmelidir.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta örneklerinin spesifik teşhisinin kesin olarak belirlenmesinde bir yardımcı olarak değil, yalnızca işlenen dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır.

Pozitif doku bileşenleri pozitif boyama sergilemezse test numunelerinin sonuçları geçersiz sayılmalıdır. Negatif bileşenler pozitif boyama sergilemezse hasta numunelerinin sonuçları da geçersiz sayılmalıdır.

Kontrol sonuçlarında açıklanamayan uyumsuzluklar derhal yerel destek temsilcisine yönlendirilmelidir. Kalite kontrol sonuçlarının spesifikasyonları karşılamaması durumunda hasta sonuçları geçersiz olur. Bunun nedeni belirlenmeli ve düzeltilmelidir ve hasta örnekleri tekrarlanmalıdır.

BOYAMA YORUMLARI / BEKLENEN SONUÇLAR

Alcian Blue Staining Kit, üretim sırasında zayıf asidik mukopolisakkaritleri göstermek için test edilir.

Zayıf Asidik Mukopolisakkaritler (münşinler): Açık Mavi

Çekirdekler: Pembe ile Kırmızı

Sitoplazma: Pembe

Gözet olmayan hücrelerde mavi boyama gözlemlenmiştir.

ÖZEL KISITLAMALAR

Bu tayan için yalnızca pozitif yüklü mikroskop slaytları kullanılmış ve doğrulanmıştır.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

ANALİTİK PERFORMANS

Hassasiyet, spesifite ve kesinlikle ilgili boyama testleri yürütülmüştür ve sonuçları aşağıda listelenmiştir.

Hassasiyet ve Spesifite

Normal ve hastalıklı gastrointestinal dokular için analitik hassasiyet ve spesifite değerlendirilmiştir. Tablo 3 ve Tablo 4'te gösterildiği gibi, değerlendirilen 62 doku vakasından altmış biri (%98.4) kabul edilebilir boyama bakımından başarılı olmuştur.

Tablo 3. Alcian Blue Staining Kit ürününün hassasiyeti/spesifitesi aşağıdaki FFPE normal dokularının test edilmesiyle belirlenmiştir.

Doku	Başarılı Vaka Sayısı / Test Edilen Sayısı
Özofagus	7 / 7
Mide	10 * / 11
İnce Bağırsak	9 / 9
Kolon	5 / 5

* Bir vakada, goblet olmayan hücrelerde aşırı miktarda mavi boyanma gözlemlenmiştir

Tablo 4. Alcian Blue Staining Kit ürününün hassasiyeti/spesifitesi aşağıdaki FFPE hastalıklı dokularının test edilmesiyle belirlenmiştir.

Doku	Başarılı Vaka Sayısı / Test Edilen Sayısı
Bağırsak Metaplazisi (Mide)	8 / 8
Bağırsak Metaplazisi (Özofagus)	8 / 8
Barrett Özofagusu	14 / 14

Kesinlik

Alcian Blue Staining Kit kesinliği, birden fazla işlem, gün, cihaz ve reaktif lotu arasında, 3 normal kolon dokusu vakası ve 3 normal ince bağırsak dokusu vakasından kesilen birden fazla slayt kullanılarak belirlenmiştir. Tüm kabul kriterleri tamamen karşılanmıştır. Kesinlik slayt çalışmaları Tablo 5'e göre Alcian Blue Staining Kit için gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5. Alcian Blue Staining Kit için kesinlik slayt çalışmaları.

Test Edilen Parametreler	Koşul sayısı	Başarılı Slayt Sayısı/Test Edilen Sayısı
İşlemler Arası	3 işlem, aynı gün	54 / 54
Günler Arası	5 gün	90 / 90
Cihazlar Arası	3 cihaz	54 / 54
İşlem İçi	aynı gün, aynı cihaz	54 / 54
Lotlar Arası	3 lot	54 / 54

SORUN GİDERME

- Kesit kalınlığı, boyama kalitesi ve yoğunluğunu etkileyebilir. Boyama uygun olmazsa destek için yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.
- Nekrotik veya otolize uğramış doku, non-spesifik boyama sergileyebilir.
- Pozitif kontrol negatifse doku, uygun olmayan şekilde toplanmış, sabitlenmiş veya deparafinize edilmiş olabilir. Toplama, saklama ve fiksasyon için uygun prosedürü izleyin.
- Pozitif kontrol negatifse slaytın uygun barkod etiketine sahip olduğunu kontrol edin. Slayt uygun şekilde etiketlenmişse kontrollerin uygun şekilde boyanıp boyanmadığını belirlemek için aynı işlemde diğer pozitif kontrolleri kontrol edin.
- Aşırı arka plan boyaması görülürse: eksik parafin giderme, boyama artefaktlarına veya boyama olmamasına neden olabilir. Parafinin tümü slayttan giderilmemişse mevcutsa uzatılmış deparafinizasyon seçeneğini kullanarak boyama işlemi tekrarlayın.
- Doku kesitleri slayttan çıkarsa slaytların pozitif yüklü olduğunu doğrulayın.

- İşlem tamamlandıktan sonra slaytların cihaz üzerinde uzun süre kalması, boyamanın kalitesini ve yoğunluğunu etkileyebilir. Boyamanın uygun olmaması halinde, işlemin sonunda slaytları derhal çıkarın ve cihaz sonrası işlemeye geçin.
- Düzeltilici eylem için Kullanım Talimatları kısmına, cihazın Kullanıcı Kılavuzuna bakın veya yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

REFERANSLAR

- 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.
- Scott JE. Alcian dyes: I.C.I. cease manufacture and release details of composition. Histochemie. 1973;37(4):379-380.
- 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.
- 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.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- 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.

NOT: Bu belgede, ondalık bir sayının tam sayı ve kesir kısımlarını ayırmak için ondalık ayırıcı olarak her zaman nokta kullanılmıştır. Binlik basamaklar için ayırıcı kullanılmamıştır.

Güvenlik ve performans özetini burada bulabilirsiniz:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Semboller

Ventana, ISO 15223-1 standardında listelenenlere ek olarak aşağıdaki sembol ve işaretleri kullanmaktadır (ABD için: daha fazla bilgi için elabdoc.roche.com/symbols adresine bakın).



Küresel Ticari Ürün Numarası



Benzersiz Cihaz Tanımlaması



Tıbbi cihazı Avrupa Birliği'ne ithal eden kuruluşu belirtir

REVİZYON GEÇMİŞİ

Rev	Güncellemeler
L	Uyarılar ve Önlemler, Referanslar ve Semboller bölümlerinde güncellemeler.

FİKRİ MÜLKİYET

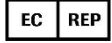
VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE ve VENTANA logosu Roche şirketinin ticari markalarıdır. Tüm diğer ticari markalar, ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

İLETİŞİM BİLGİLERİ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com



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

