

Alcian Blue Staining Kit

REF

860-002

05279186001

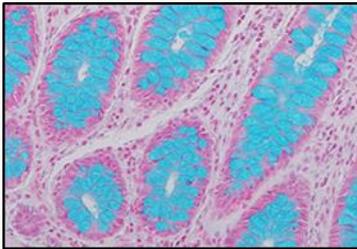
IVD
 75


Abb. 1. Färbung von Dickdarmgewebe mit Alcian Blue Staining Kit

VERWENDUNGSZWECK

Alcian Blue Staining Kit ist für den Laboreinsatz zur qualitativen histologischen Färbung zum Nachweis von schwach sauren Mucopolysacchariden durch Lichtmikroskopie in Schnitten von formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE) Gewebe, die auf einem BenchMark Special Stains Gerät gefärbt wurden, bestimmt.

Dieses Produkt muss von einem qualifizierten Pathologen in Verbindung mit histologischen Untersuchungen, klinisch relevanten Informationen und geeigneten Kontrollen interpretiert werden.

Dieses Produkt ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD) bestimmt

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Mucopolysaccharide (Mucine) sind ein Hauptbestandteil von Becherzellen, d. h. von Darmschleimhautepithelzellen, deren Funktion darin besteht, Mukus zu bilden und abzugeben.¹ Becherzellen kommen normalerweise im Epithel des Dünn- und Dickdarms vor, wohingegen sie in der Speiseröhre oder im Magen nicht vorhanden sind.²

Der Farbstoff Alcian Blue ist aufgrund seiner chemischen Eigenschaften für den Nachweis schwach saurer Mucine in Becherzellen geeignet. Polysaccharide von sauren, aber nicht von neutralen Mucinen werden durch den Farbstoff bei pH 2.5 blau gefärbt.^{3,4}

Alcian Blue Staining Kit unterstützt Pathologen bei der Identifizierung von Becherzellen. Das Vorhandensein von Becherzellen in der Speiseröhre und im Magen stellt eine Anomalie dar, und die Färbung unterstützt den Pathologen bei der Diagnose einer intestinalen Metaplasie und eines Barrett-Ösophagus.

VERFAHRENSPRINZIP

Die Färbereaktion beruht auf der Reaktion von Alcian Blue und polyanionischen Verbindungen bei pH 2.5. Alcian Blue ist ein polyvalenter, basischer, wasserlöslicher Farbstoff, dessen blaue Farbe von der Kupferphthalocyanin-Gruppe stammt, die mit kationischen Solubilisierungsmitteln modifiziert wird.^{3,5} Bei dieser Reaktion bilden sich Salzbrücken zwischen Alcian Blue und den sauren Gruppen der sauren Mucopolysaccharide, sodass diese blau gefärbt werden. Die Gegenfärbung erfolgt mit Nuclear Fast Red Counterstain, um einen rosa Kontrasthintergrund zu erzielen.

Dieses Kit wurde für die Verwendung auf BenchMark Special Stains Geräten optimiert. Die Reagenzien werden auf das Gewebe auf Objektträgern aufgetragen und über die gesamte Probe gemischt.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

Die Reagenzfläschchen werden in mit Barcode gekennzeichneten Trägern geliefert, die in den Reagenzträger des Geräts geladen werden können. Jedes Kit enthält ausreichend Reagenzmaterial für 75 Tests.

Ein 22-mL-Fläschchen Alcian Blue enthält 1.2 % Alcianblau in einer 3%igen Essigsäurelösung.

Ein 22-mL-Fläschchen Nuclear Fast Red Counterstain enthält etwa 0.2 % Kernechrot und etwa 5 % Aluminiumsulfat.

Zwei Fläschchen-Einsätze mit Saugpipetten.

Rekonstitution, Mischen, Verdünnung, Titration

Rekonstitution, Mischen, Verdünnung und Titration von Kitreagenzien sind nicht erforderlich. Eine weitere Verdünnung jeglicher Reagenzien könnte zu einer unzureichenden Färbung führen.

Diese Reagenzien wurden für die Verwendung auf BenchMark Special Stains Geräten optimiert.

NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE, ABER ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Möglicherweise sind nicht alle in dem Methodenblatt aufgeführten Produkte in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an den zuständigen Kundendienst.

Die folgenden möglicherweise für die Färbung benötigten Reagenzien und Materialien sind nicht im Lieferumfang enthalten:

1. Empfohlenes Kontrollgewebe
2. Objektträger, positiv geladen
3. BenchMark Special Stains Gerät
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (Art.-Nr. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (Art.-Nr. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (Art.-Nr. 860-041 / 08309817001)
7. Allgemeine Laborgeräte

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Alcian Blue Staining Kit sollte bei 15-30 °C gelagert werden.

Bei korrekter Lagerung sind ungeöffnete und geöffnete Reagenzien bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Ein Reagenz darf nach Ablauf des Verfallsdatums auf dem Kit nicht mehr verwendet werden.

Es gibt keine sicheren Anzeichen für eine Instabilität dieser Reagenzien. Daher sollten bei der Testung unbekannter Proben stets Kontrollen mitgeführt werden. Wenden Sie sich an den zuständigen Kundendienst, wenn die Färbung von positivem Kontrollmaterial nachlässt, da dies auf eine Instabilität der Reagenzien hinweisen kann.

PROBENVORBEREITUNG

Für dieses Produkt und BenchMark Special Stains Geräte eignet sich routinemäßig verarbeitetes FFPE-Gewebe. Als Gewebefixierungsmittel wird 10%iges neutral gepuffertes Formalin empfohlen.⁶

Probensammlung und -lagerung müssen gemäß dem Dokument „Histotechnology: A Self Instructional Text“ (Histotechnologie: Ein Text zum Selbststudium) durchgeführt werden.⁶ Gewebeschnitte mit einer geeigneten Dicke (etwa 4 µm) erstellen und auf positiv geladene Glasobjektträger aufbringen.

1. Die Objektträger trocknen.⁶
2. Die passenden Barcode-Etiketten ausdrucken.
3. Die Barcode-Etiketten auf das matte Ende der Objektträger kleben; die Objektträger erst dann in das Gerät laden. (Angaben zur korrekten Platzierung der Etiketten finden Sie im Benutzerhandbuch des Geräts.)

Das empfohlene Protokoll ist dem einschlägigen Abschnitt der Gebrauchsanweisung des BenchMark Special Stains Geräts zu entnehmen.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD).
2. Nur zur professionellen Verwendung.
3. **WICHTIGER HINWEIS:** In den USA ist der Verkauf dieses Produkts laut Bundesgesetz nur durch einen Arzt oder auf Anordnung eines Arztes zulässig. (Rx Only (verschreibungspflichtig)).
4. Nur für die angegebene Testanzahl verwenden.
5. Positiv geladene Objektträger können gegenüber umgebungsbedingten Belastungen anfällig sein, die zu einer nicht adäquaten Färbung führen. Mehr Informationen über die Verwendung dieser Arten von Objektträgern erhalten Sie von Ihrem Roche Servicetechniker.
6. Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen als biogefährliche Materialien behandelt und mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Im Falle einer Exposition sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörden zu beachten.^{7,8}
7. Kontakt der Reagenzien mit Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt von Reagenzien mit empfindlichen Körperteilen mit reichlich Wasser spülen.
8. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da dies zu fehlerhaften Versuchsergebnissen führen kann.

9. Weiterführende Informationen zur Verwendung dieses Produkts sind dem Benutzerhandbuch des BenchMark Special Stains Geräts und den Gebrauchsanweisungen der benötigten Komponenten auf navifyportal.roche.com zu entnehmen.
10. Anweisungen zur vorschriftsmäßigen Entsorgung sind bei den zuständigen kommunalen und/oder staatlichen Behörden erhältlich.
11. Die Kennzeichnung der Produktsicherheit erfolgt in erster Linie nach der EU-GHS-Verordnung. Sicherheitsdatenblätter sind für professionelle Benutzer auf Anfrage erhältlich.
12. Bei Verdacht auf ein schwerwiegendes Ereignis im Zusammenhang mit diesem Produkt wenden Sie sich an den Roche-Vertreter vor Ort und melden das Ereignis bei der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaats bzw. des Landes, in dem sich der Benutzer befindet.

Dieses Produkt enthält Bestandteile, die nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 wie folgt eingestuft sind:

Tabelle 1. Gefahrenhinweis.

Gefahr	Code	Hinweis
	H290	Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.
	H318	Verursacht schwere Augenschäden.
	P234	Nur in Originalverpackung aufbewahren.
	P280	Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
	P305+ P351+ P338+ P310	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.
	P390	Verschüttete Mengen aufnehmen, um Materialschäden zu vermeiden.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Reagenzfläschchen vorbereiten

Vor der ersten Verwendung muss ein Fläschchen-Einsatz mit Saugpipette in das Reagenzfläschchen gesetzt werden.

Dazu den Versanddeckel des Fläschchens abnehmen und den Einsatz mit Saugpipette in das Fläschchen setzen. Nach der Öffnung des Fläschchens sollte der Einsatz mit Saugpipette im Fläschchen verbleiben.

Färbeverfahren

1. Die Reagenzien und Objektträger in das Gerät laden.
2. Während der Reagenzverwendung den weichen Deckel im Schlitz des Reagenzhalters aufbewahren.
3. Den Färbelauf je nach empfohlenem Protokoll in Tabelle 2 und Anweisungen im Benutzerhandbuch durchführen.
4. Nach Abschluss des Laufs die Objektträger aus dem Gerät nehmen.
5. Das Reagenzfläschchen mit dem weichen Deckel verschließen, wenn das Reagenz nicht verwendet wird.
6. Nach der Verwendung die Reagenzien unter den empfohlenen Lagerbedingungen aufbewahren.

Empfohlenes Protokoll

Die Parameter für die automatisierten Verfahren können gemäß dem Verfahren im Benutzerhandbuch des Geräts angezeigt, gedruckt und bearbeitet werden.

Die folgenden Verfahren ermöglichen Flexibilität je nach Benutzeranforderungen. Dieses Produkt wurde für BenchMark Special Stains Geräte optimiert, der Benutzer muss jedoch die mit diesem Reagenz erzielten Ergebnisse validieren.

Tabelle 2. Empfohlenes Färbeprotokoll für Alcian Blue Staining Kit auf einem BenchMark Special Stains Gerät.

Färbeverfahren	S Alcian Blue Staining Kit
Protokollschritt	Methode
Entparaffinisierung	Zur Aktivierung einer automatisierten Paraffinentfernung.
Anbacken (optional)	Eine Standardeinstellung ist nicht ausgewählt. Empfohlen werden 4 Minuten bei 75 °C.
Optimierung der Färbeintensität (Alcian Blue)	Die Standardeinstellung ist 8 Minuten. Zur Anpassung der Färbeintensität:* Die Inkubationsdauer sollte zwischen 4 und 20 Minuten betragen: 4 Minuten, hellere Färbung von Mucin 20 Minuten, dunklere Färbung von Mucin
Optimierung der Intensität der Gegenfärbung (Alcian Blue NFR)	Die Standardeinstellung ist 4 Minuten. Zur Anpassung der Intensität der Gegenfärbung:* Die Inkubationsdauer sollte zwischen 4 und 16 Minuten betragen: 4 Minuten – hellere Gegenfärbung 16 Minuten – dunklere Gegenfärbung

* Zur Anpassung der Färbepreferenzen jeweils entweder nur die Temperatur oder die Dauer der Inkubation erhöhen.

Empfohlene Geräte-Nachbehandlung

1. Die Objektträger zweimal mit frischem 95%igem Ethanol dehydrieren, um Lösungsrückstände zu entfernen. Dann dreimal mit frischem 100%igem Ethanol dehydrieren.
2. Die Objektträger 3-mal in frischem 100%igem Xylol klären.
3. Mit permanentem Eindeckmedium bedecken.

Mit dem Eindeckprotokoll des VENTANA HE 600 Systems kompatibel. Weiterführende Hinweise sind dem Benutzerhandbuch des VENTANA HE 600 Systems zu entnehmen.

QUALITÄTSKONTROLLVERFAHREN

Als positives Kontrollmaterial eignet sich humanes FFPE-Gewebe, das saure Mucine oder saure Mucopolysaccharide aufweist, wie etwa Dickdarm- oder Dünndarmgewebe. Das Kontrollgewebe muss eine frische Probe einer Autopsie, Biopsie oder eines chirurgischen Eingriffs sein und so schnell wie möglich auf identische Weise wie die Probenstücke präpariert oder fixiert werden. Mit diesem Gewebe sollten alle Analyseschritte von der Gewebepreparation bis zu Färbung kontrolliert werden.

Die Verwendung eines Gewebeschnitts, der anders als die Testprobe fixiert oder aufbereitet wurde, ermöglicht die Kontrolle aller Reagenzien und Methodenschritte mit Ausnahme der Fixierung und Gewebeaufbereitung. Die Zellbestandteile anderer Gewebeelemente können als negative Kontrolle dienen.

Es ist optimale Laborpraxis, einen positiven Kontrollschnitt auf denselben Objektträger zu platzieren, auf dem sich auch das Testgewebe befindet. Auf diese Weise können Fehler bei Anwendung der Reagenzien auf den Objektträger erkannt werden. Kontrollgewebe kann sowohl positiv als auch negativ färbende Bestandteile enthalten und damit als Positiv- wie auch als Negativkontrolle verwendet werden.

Bei jedem Lauf muss Kontrollgewebe getestet werden.

Nachweislich positive Gewebekontrollen dürfen nur zur Kontrolle der korrekten Leistung von verarbeiteten Gewebe und von Testreagenzien verwendet werden. Sie darf nicht als Unterstützung bei der Erstellung einer bestimmten Diagnose auf Grundlage der Patientenproben dienen.

Wenn bei den positiven Gewebestandteilen keine positive Färbung nachgewiesen wird, gelten die Ergebnisse der Testproben als ungültig. Wenn bei den negativen Gewebestandteilen eine positive Färbung nachgewiesen wird, gelten auch die Ergebnisse der Patientenproben als ungültig.

Wenn ungeklärte Diskrepanzen bei Kontrollergebnissen auftreten, umgehend den zuständigen Kundendienst benachrichtigen. Wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle nicht den Spezifikationen entsprechen, sind die Patientenergebnisse ungültig. Die Ursache muss geklärt und behoben werden. Dann können die Patientenproben wiederholt werden.

AUSWERTUNG DER FÄRBUNG / ERWARTETE ERGEBNISSE

Alcian Blue Staining Kit wird nach der Herstellung hinsichtlich der Färbung schwach saurer Mucopolysaccharide getestet.

Schwach saure Mucopolysaccharide (Mucine): leuchtend blau

Zellkerne: rosa bis rot

Zytoplasma: rosa

Eine blaue Färbung wurde bei anderen Zellen als Becherzellen beobachtet.

SPEZIFISCHE EINSCHRÄNKUNGEN

Nur positiv geladene Objektträger sind für diesen Assay verwendet und validiert worden.

LEISTUNGSMERKMALE

ANALYTISCHE LEISTUNG

Es wurden Färbetests auf Sensitivität, Spezifität und Präzision durchgeführt; die Ergebnisse sind unten aufgeführt.

Sensitivität und Spezifität

Es wurden Untersuchungen zur analytischen Sensitivität und Spezifität für normale und erkrankte gastrointestinale Gewebe durchgeführt. Wie in Tabelle 3 und Tabelle 4 gezeigt, wiesen 61 von 62 (98,4 %) der beurteilten Gewebefälle ein akzeptables Färbergebnis auf.

Tabelle 3. Die Sensitivität und Spezifität von Alcian Blue Staining Kit wurden durch das Testen der folgenden normalen FFPE-Gewebe ermittelt.

Gewebe	Anzahl der erfolgreichen Fälle/aller getesteten Fälle
Speiseröhre	7 / 7
Magen	10 * / 11
Dünndarm	9 / 9
Dickdarm	5 / 5

* In einem Fall wurde eine übermäßige blaue Färbung bei nicht Becherzellen beobachtet

Tabelle 4. Die Sensitivität und Spezifität von Alcian Blue Staining Kit wurden durch das Testen der folgenden erkrankten FFPE-Gewebe ermittelt.

Gewebe	Anzahl der erfolgreichen Fälle/aller getesteten Fälle
Intestinale Metaplasie (Magen)	8 / 8
Intestinale Metaplasie (Speiseröhre)	8 / 8
Barrett-Ösophagus	14 / 14

Präzision

Die Präzision von Alcian Blue Staining Kit wurde über mehrere Läufe und Tage und mit mehreren Geräten und Reagenzchargen ermittelt. Getestet wurden mehrere Objektträger mit Schnitten von 3 normalen Dickdarmgewebe- und 3 normalen Dünndarmgewebefällen. Alle Akzeptanzkriterien wurden vollständig erfüllt. Die Präzisions-Objektträgerstudien mit Alcian Blue Staining Kit wurden gemäß Tabelle 5 durchgeführt.

Tabelle 5. Präzisions-Objektträgerstudien mit Alcian Blue Staining Kit.

Getestete Parameter	Anzahl der Bedingungen	Anzahl der erfolgreichen Fälle / aller getesteten Fälle
Inter-Lauf	3 Läufe, gleicher Tag	54 / 54

Getestete Parameter	Anzahl der Bedingungen	Anzahl der erfolgreichen Fälle / aller getesteten Fälle
Inter-Tage	5 Tage	90 / 90
Inter-Geräte	3 Geräte	54 / 54
Intra-Lauf	gleicher Tag, gleiches Gerät	54 / 54
Inter-Charge	3 Chargen	54 / 54

FEHLERBEHEBUNG

- Die Schnittdicke kann die Qualität und Intensität der Färbung beeinflussen. Bei einem nicht adäquaten Färbergebnis ist der zuständige Kundendienst zu kontaktieren.
- Nekrotisches und autolytisches Gewebe kann unspezifisch gefärbt sein.
- Ist die positive Kontrolle negativ, wurde das Gewebe möglicherweise nicht ordnungsgemäß gewonnen, fixiert oder entparaffiniert. Es sind die korrekten Verfahren zur Gewinnung, Aufbewahrung und Fixierung von Gewebe zu befolgen.
- Wenn die positive Kontrolle negativ ist, ist zu überprüfen, ob der Objektträger das richtige Barcode-Etikett aufweist. Ist der Objektträger ordnungsgemäß beschriftet, werden die anderen positiven Kontrollen des gleichen Laufs geprüft, um die ordnungsgemäße Färbung zu bestätigen.
- Bei übermäßiger Hintergrundfärbung: Eine unvollständige Paraffinentfernung kann zu Färbefaktoren führen oder eine Färbung verhindern. Wurde das Paraffin nicht vollständig von dem Objektträger entfernt, den Färbelauf mit der Option zur erweiterten Entparaffinisierung wiederholen.
- Wenn sich Gewebeschnitte beim Waschen vom Objektträger ablösen, muss geprüft werden, ob die Objektträger positiv geladen sind.
- Ein längerer Verbleib der Objektträger im Gerät nach Abschluss des Laufs kann die Qualität und Intensität der Färbung beeinträchtigen. Bei einer nicht adäquaten Färbung die Objektträger am Ende des Laufs sofort herausnehmen und der Geräte-Nachbehandlung unterziehen.
- Bezüglich der Fehlerbehebung ist der Abschnitt „Gebrauchsanweisung“ oder das Benutzerhandbuch des Geräts zu beachten oder der zuständige Kundendienst zu kontaktieren.

LITERATURANGABEN

- 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.

HINWEIS: In diesem Dokument wird statt einem Komma ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet, um die Vorkomma- von den Nachkommastellen zu trennen. Es werden keine Tausendertrennzeichen verwendet.

Eine Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung ist verfügbar auf:

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

Symbole

Ventana verwendet die folgenden Symbole und Zeichen zusätzlich zu den Symbolen und Zeichen gemäß Norm ISO 15223-1 (für die USA: elabdoc.roche.com/symbols für weitere Informationen).



Internationale Artikelnummer



Eindeutige Geräteerkennung (UDI)



Verweist auf den Importeur des medizinischen Produkts in die Europäische Union

VERSIONSVERLAUF

Rev.	Updates
L	Aktualisierungen der Abschnitte: Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen, Literaturangaben und Symbole.

GEISTIGES EIGENTUM

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE und das VENTANA Logo sind Marken von Roche. Alle sonstigen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.

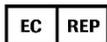
© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTDATEN



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

