

Alcian Blue Staining Kit

REF

860-002

05279186001

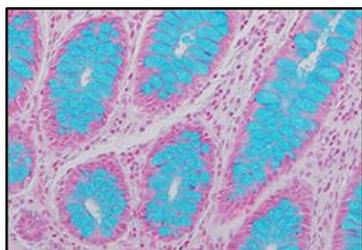
IVD
 75


Рис. 1. Окрашивание набором Alcian Blue Staining Kit ткани толстой кишки

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Alcian Blue Staining Kit предназначен для использования в лаборатории с целью качественного гистологического окрашивания для определения путем световой микроскопии слабых кислотных мукополисахаридов в срезах фиксированной формалином и залитой в парафин (FFPE) ткани, окрашенной на приборе BenchMark Special Stains.

Интерпретация результатов анализа должна осуществляться квалифицированным врачом-патологоанатомом с учетом результатов гистологического исследования и необходимых клинических данных после сравнения с соответствующими контролями.

Этот продукт предназначен для диагностики *in vitro* (IVD)

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

Мукополисахариды (муцины) являются ключевым компонентом бокаловидных клеток, эпителиальных клеток слизистой оболочки кишечника, функция которых заключается в синтезе и выделении слизи¹. Бокаловидные клетки обычно присутствуют в эпителии тонкой и толстой кишок и обычно отсутствуют в пищеводе или желудке².

Химические свойства красителя Alcian Blue позволяют ему осуществлять детекцию слабых кислотных муцинов в бокаловидных клетках. Полисахариды кислых, но не нейтральных муцинов окрашиваются красителем в синий цвет при pH 2.5^{3,4}.

Набор Alcian Blue Staining Kit используется для помощи врачу-патологоанатому в идентификации бокаловидных клеток. Присутствие бокаловидных клеток в пищеводе и желудке является ненормальным, и окрашивание помогает врачу-патологоанатому в диагностике кишечной метаплазии и пищевода Barrett.

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Реакция окрашивания основана на реакции Alcian Blue с pH 2.5 и полианионными соединениями. Alcian Blue — поливалентный, основной, водорастворимый краситель, синий цвет которого обусловлен группой фталоцианина меди, модифицированной катионными солибилизирующими агентами.^{3,5} Во время этой реакции образуются солевые связи между Alcian Blue и кислотными группами кислых мукополисахаридов, окрашивая их в синий цвет. Реагент Nuclear Fast Red Counterstain применяется для создания розового контрастного фона.

Данный набор оптимизирован для использования на приборах BenchMark Special Stains. Реагенты наносятся на ткань на предметном стекле для микроскопа и смешиваются на всей поверхности образца.

МАТЕРИАЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Флаконы с реагентом поставляются в маркированных штрихкодом носителях, которые помещают в лоток для реагентов прибора. Каждый набор содержит реагент в количестве, достаточном для проведения 75 тестов.

Один флакон Alcian Blue объемом 22 мл содержит 1.2 % альцианового синего в 3%-м растворе уксусной кислоты.

Один флакон Nuclear Fast Red Counterstain объемом 22 мл содержит приблизительно 0.2 % ядерного красителя прочного красного и 5 % сульфата алюминия.

Две вставки для флакона с соломинками.

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование входящих в набор реагентов не требуется. Последующее разбавление какого-либо из реагентов может привести к недостаточному окрашиванию.

Реагенты данного набора разведены до оптимальной концентрации для использования в приборах BenchMark Special Stains.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Продукты, перечисленные в технологической карте процесса, могут быть недоступны в некоторых странах. Проконсультируйтесь с представителем региональной службы поддержки.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки:

1. рекомендованная контрольная ткань;
2. предметные стекла для микроскопа с положительным зарядом;
3. прибор BenchMark Special Stains;
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (№ по каталогу 860-036 / 06523102001);
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (№ по каталогу 860-034 / 06523072001);
6. раствор BenchMark Special Stains Wash II (№ по каталогу 860-041 / 08309817001);
7. лабораторное оборудование общего назначения;

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Набор Alcian Blue Staining Kit должен храниться при температуре 15–30 °C.

При условии надлежащего хранения вскрытые и невскрытые реагенты сохраняют свои свойства до даты, указанной на упаковке.

Не использовать реагент после истечения срока годности, указанного на этикетке набора.

Признаки, однозначно свидетельствующие о нестабильности данных реагентов, отсутствуют. По этой причине одновременно с исследованием неизвестного образца следует проводить циклы определения на контролях. Если материалы для положительного контроля демонстрируют более слабое окрашивание, свяжитесь с представителем региональной службы поддержки, так как это может быть признаком нестабильности реагентов.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Обработанные стандартным способом FFPE ткани необходимо использовать с данным продуктом в приборах BenchMark Special Stains. В качестве фиксатора ткани рекомендуется использовать 10 % нейтральный забуференный формалин.⁶ Выполняйте сбор и хранение образцов в соответствии с документом Histotechnology: A Self Instructional Text⁶ Сделайте срезы необходимой толщины, приблизительно 4 мкм, и поместите их на положительно заряженные предметные стекла.

1. Высушите предметные стекла.⁶
2. Распечатайте соответствующие этикетки со штрихкодами.
3. Наклейте этикетки со штрихкодами на матовый конец предметных стекол перед их загрузкой в прибор (правильное размещение этикеток см. в руководстве пользователя конкретного прибора).

Рекомендованный протокол для прибора BenchMark Special Stains см. в разделе «Инструкция по применению».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro* (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. **ВНИМАНИЕ!** Федеральный закон США разрешает продажу этого изделия только врачам или по предписанию врача. (Rx Only).
4. Не использовать для проведения количества тестов, превышающего указанное.
5. Предметные стекла с положительным зарядом могут быть чувствительными к воздействию факторов окружающей среды, что ведет к некорректному окрашиванию. Обратитесь к представителю сервисной службы компании Roche для получения более подробной информации об использовании данного типа предметных стекол.

6. Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности. В случае контакта с ними необходимо следовать руководящим указаниям ответственных здравоохранительных органов.^{7,8}
7. Избегайте контакта реагентов с глазами и слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте пораженные участки достаточным количеством воды.
8. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.
9. Дальнейшую информацию по использованию устройства см. в руководстве пользователя прибора BenchMark Special Stains и инструкциях по применению всех необходимых компонентов на веб-сайте navifyportal.roche.com.
10. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными компетентными органами в отношении рекомендуемого способа утилизации.
11. Маркировка безопасности продукции в первую очередь соответствует директивам ЕС по СГС. Паспорт безопасности предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
12. Чтобы сообщить о подозрениях на серьезные происшествия, связанные с данным устройством, обращайтесь в местное представительство компании Roche и в уполномоченные органы государства-участника или страны местонахождения пользователя.

Данный продукт содержит компоненты, классифицированные согласно регламенту (ЕС) № 1272/2008 следующим образом.

Табл. 1. Информация об опасности.

Опасность	Код	Заявление
	H290	Может вызывать коррозию металлов.
	H318	Вызывает серьезное повреждение глаз.
	P234	Храните только в оригинальной упаковке.
	P280	Используйте средства защиты глаз/средства защиты лица.
	P305+ P351+ P338+ P310	ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА. Осторожно промойте водой в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если они имеются и это легко осуществить. Продолжайте промывать. Незамедлительно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу.
	P390	Абсорбируйте разлившееся вещество, чтобы предотвратить повреждение материалов.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Подготовка флакона с реагентом

Перед первым использованием вставку для флакона и соломинку нужно поместить во флакон с реагентом.

Удалите транспортировочный колпачок из флакона и поместите вставку и соломинку во флакон. После открытия флакона соломинка должна оставаться во флаконе.

Процедура окрашивания

1. Загрузите реагенты и предметные стекла в прибор.
2. Положите мягкий колпачок в отверстие держателя реагентов, если реагенты используются.
3. Выполните цикл окрашивания в соответствии с рекомендованным протоколом в Табл. 2 и инструкциями в руководстве пользователя.
4. По завершении цикла извлеките предметные стекла из прибора.
5. Если флакон с реагентом не используется, закройте его мягким колпачком.
6. После использования храните реагенты с соблюдением рекомендованных условий хранения.

Рекомендованный протокол

Параметры автоматизированных процедур доступны для просмотра, печати и редактирования в соответствии с инструкциями в руководстве пользователя прибора.

Процесс выполнения следующих процедур может быть гибко настроен в соответствии с потребностями пользователя. Данный продукт оптимизирован для использования в приборах BenchMark Special Stains, однако пользователь должен валидировать результаты, полученные с помощью данного продукта.

Табл. 2. Рекомендованный протокол окрашивания для Alcian Blue Staining Kit в приборах BenchMark Special Stains.

Процедура окрашивания	S Alcian Blue Staining Kit
Этап протокола	Метод
Депарафинизация	Выберите автоматическое удаление парафина.
Прогрев (дополнительно)	Параметр по умолчанию не выбран. Рекомендуется 75 °C в течение 4 минут.
Оптимизация интенсивности окрашивания (Alcian Blue)	Время по умолчанию — 8 минут. Выберите включение регулировки интенсивности окрашивания.* Выберите продолжительность инкубации от 4 до 20 минут: 4 минут — более светлое окрашивание муцина; 20 минут — более темное окрашивание муцина.
Оптимизация интенсивности контрастного окрашивания (Alcian Blue NFR)	Время по умолчанию — 4 минут. Выберите включение регулировки интенсивности контрастного окрашивания.* Выберите продолжительность инкубации от 4 до 16 минут: 4 минуты — более светлое контрастное окрашивание; 16 минут — более темное контрастное окрашивание.

* Чтобы настроить предпочтительные значения для окрашивания, увеличивайте температуру окрашивания и продолжительность инкубации по одному параметру за раз.

Рекомендуемая обработка после автоматического окрашивания

1. Ополосните предметные стекла 95%-м этанолом, дважды сменив его, чтобы удалить остатки раствора, а затем 100%-м этанолом, трижды сменив его.
2. Выполните очистку предметных стекол в 100%-м ксилоле, трижды сменив его.
3. Накройте покровным стеклом, используя постоянную заливочную среду.

Совместим с протоколом автоматического накрывания системы VENTANA HE 600. Более подробные инструкции см. в руководстве пользователя системы VENTANA HE 600.

ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Образец положительного тканевого контроля — фиксированная формалином и залитая в парафин (FFPE) человеческая ткань, содержащая кислые муцины или кислые мукополисахариды, например ткань толстой кишки или тонкой кишки. В качестве контрольной ткани следует использовать свежие образцы тканей, полученные при вскрытии, биопсии или в ходе хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать по точно такой же процедуре, какая используется для тестируемых образцов. С помощью таких тканей следует осуществлять мониторинг всех этапов анализа от приготовления образцов тканей до окрашивания.

Использование срезов тканей, фиксированных или обработанных иначе, чем тестируемый образец, позволяет осуществлять контроль для всех реагентов и этапов методики, за исключением фиксации и обработки тканей. Клеточные

структуры других тканевых элементов могут служить в качестве отрицательного контроля.

Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно предметное стекло с образцом исследуемой ткани. Это позволяет распознать случаи, когда реагенты нанесены на предметное стекло неправильно. Контрольная ткань может содержать как положительные, так и отрицательные элементы окрашивания и служить как в качестве положительного, так и отрицательного контроля.

Контрольная ткань должна тестироваться при каждом цикле.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля правильности работы с обработанными тканями и реагентами теста, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании образцов пациента.

Если не наблюдается положительного окрашивания положительных тканевых компонентов, результаты окрашивания тестируемых образцов следует считать недействительными. Если наблюдается положительное окрашивание отрицательных компонентов, результаты окрашивания исследуемых образцов пациента также следует считать недействительными.

В случае необъяснимых расхождений контрольных результатов следует немедленно обратиться к представителю региональной службы поддержки. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты для пациента являются недействительными. Необходимо указать причину, исправить ее и повторить исследование образцов пациента.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОКРАШИВАНИЯ / ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Набор Alcian Blue Staining Kit тестируется на месте производства на способность определять слабокислые мукополисахариды.

Слабокислые мукополисахариды (муцины): голубой

Ядра: от розового до красного

Цитоплазма: розовый

Синее окрашивание наблюдается в клетках, отличных от бокаловидных.

ОСОБЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

Для данного анализа использовались и прошли валидацию только предметные стекла с положительным зарядом.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Для данного реагента были проведены исследования специфичности, чувствительности и прецизионности окрашивания. Результаты приведены ниже.

Чувствительность и специфичность

Оценивалась аналитическая чувствительность и специфичность для здоровых и пораженных тканей желудочно-кишечного тракта. Шестьдесят одна из 62 (98,4 %) проверенных тканей удовлетворяла критериям приемлемого окрашивания, и результаты представлены в Табл. 3 и Табл. 4.

Табл. 3. Чувствительность/специфичность набора Alcian Blue Staining Kit определялась путем тестирования фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) здоровых тканей.

Ткань	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/число анализов
Пищевод	7 / 7
Желудок	10 * / 11
Тонкая кишка	9 / 9
Толстая кишка	5 / 5

* В одном случае в клетках, отличных от бокаловидных, наблюдалось избыточное окрашивание в синий.

Табл. 4. Чувствительность/специфичность набора Alcian Blue Staining Kit определялась путем тестирования фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) пораженных тканей.

Ткань	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/число анализов
Кишечная метаплазия (желудок)	8 / 8
Кишечная метаплазия (пищевод)	8 / 8
Пищевод Барретта	14 / 14

Прецизионность

Прецизионность набора Alcian Blue Staining Kit определялась между несколькими циклами, днями, приборами и партиями реагентов с использованием нескольких срезов 3 случаев здоровой ткани толстой кишки и 3 случаев здоровой ткани тонкого кишечника. Было достигнуто соответствие всем критериям приемлемости. Исследования прецизионности на предметных стеклах для набора Alcian Blue Staining Kit проводились в соответствии с данными Табл. 5.

Табл. 5. Исследования прецизионности на предметных стеклах для набора Alcian Blue Staining Kit.

Тестируемые параметры	Количество условий	Число предметных стекол, которые удовлетворяли критериям/число анализов
Между циклами	3 цикла, тот же день	54 / 54
Между днями	5 дней	90 / 90
Между приборами	3 прибора	54 / 54
В пределах одного цикла	Тот же день, тот же прибор	54 / 54
Между партиями	3 партии	54 / 54

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

- Толщина среза может оказывать влияние на качество и интенсивность окрашивания. Если результаты окрашивания неудовлетворительные, обратитесь за помощью к представителю региональной службы поддержки.
- Некротическая или автолизированная ткань может давать неспецифическое окрашивание.
- Если результаты положительного контроля отрицательные, возможно, ткани неправильно собирались, фиксировались или депарафинизировались. Соблюдайте методику забора, хранения и фиксации образцов.
- Если результаты положительного контроля отрицательные, проверьте правильность этикетки со штрихкодом на предметном стекле. Если этикетка со штрихкодом на предметном стекле правильная, проверьте другие положительные контроли из того же цикла, чтобы определить правильность окрашивания при выполнении контроля.
- Причиной избыточного фонового окрашивания может служить неполное удаление парафина, которое приводит к возникновению артефактов или отсутствию окрашивания. Если с предметного стекла удален не весь парафин, при возможности, цикл окрашивания следует повторить с использованием варианта продленной депарафинизации.
- Если срезы ткани смываются с предметного стекла, проверьте предметные стекла и убедитесь, что они имеют положительный заряд.
- Длительное нахождение предметных стекол внутри прибора после завершения цикла может повлиять на качество и интенсивность окрашивания. Если окрашивание оказывается неудовлетворительным, извлекайте предметные стекла в конце цикла и переходите к обработке после автоматического окрашивания в приборе быстрее.

8. Способы устранения проблем см. в разделе «Инструкция по применению» или руководстве пользователя прибора. Эту информацию также можно получить у представителя региональной службы поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

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, Deloivo 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.

ПРИМЕЧАНИЕ. В настоящем документе в дробных числах в качестве границы, отделяющей десятичные знаки от целого, всегда используется точка. Разделители для тысяч не используются.

Сводную информацию о безопасности и эксплуатационных характеристиках можно найти по адресу:

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

Символы

Компания Ventana использует следующие символы и знаки в дополнение к указанным в стандарте ISO 15223-1 (для США: более подробную информацию см. на веб-сайте elabdoc.roche.com/symbols).



Глобальный номер товара



Уникальный идентификатор устройства



Указывает на юридическое лицо, осуществляющее импорт медицинского изделия в страны Европейского союза.

ИСТОРИЯ РЕДАКЦИЙ

Ред.	Обновления
L	Обновлены разделы «Предупреждения и меры предосторожности» «Литература» и «Символы».

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche. Все остальные товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



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

