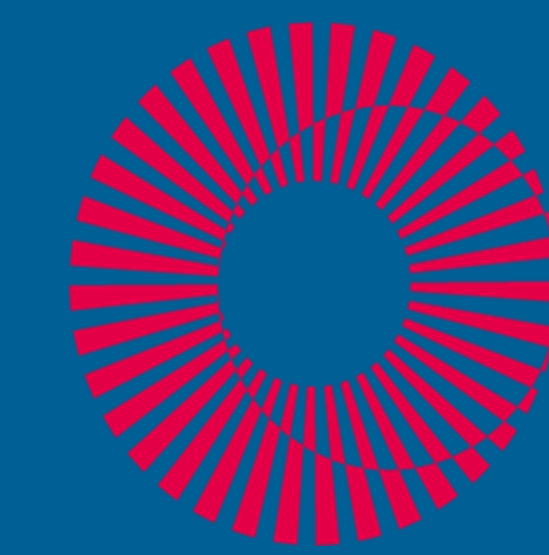


Verificatie van de Alcian Blue pH 2,5 (Bio-Optica) kleurkit

Ine De Booser, Laboratorium voor Pathologische Anatomie, AZ Sint-Maarten



UCLL
HOOGESCHOOL



Inleiding

Alcian Blue is een histochemische kleuring die de zure mucopolysacchariden, een synoniem hiervoor is mucines, in weefsel aankleurt. De kleuring heeft verschillende doeleinden. Enerzijds kan het gebruikt worden als ondersteuning voor de diagnose van verschillende pathologische ziektes zoals intestinale metaplasie en mucinosen. Anderzijds kan het ook helpen bij bv. het categoriseren van tumoren en cystes.

Gewoonlijk wordt hiervoor de Alcian Blue Staining Kit (Roche Diagnostics) gebruikt maar wegens een tekort aan grondstoffen wordt deze kit niet meer geleverd^[1]. Daardoor werd besloten om over te schakelen naar de Alcian Blue pH 2,5 (Bio-Optica) kleurkit. Om deze kit in de routine te mogen implementeren, is een verificatie vereist.

Materiaal en methoden

De verificatie van de kleurkit bestaat uit twee stappen: optimalisatie van de kleuring en de eigenlijke verificatie. Beide stappen werden uitgevoerd op een celblok dat appendix bevat.

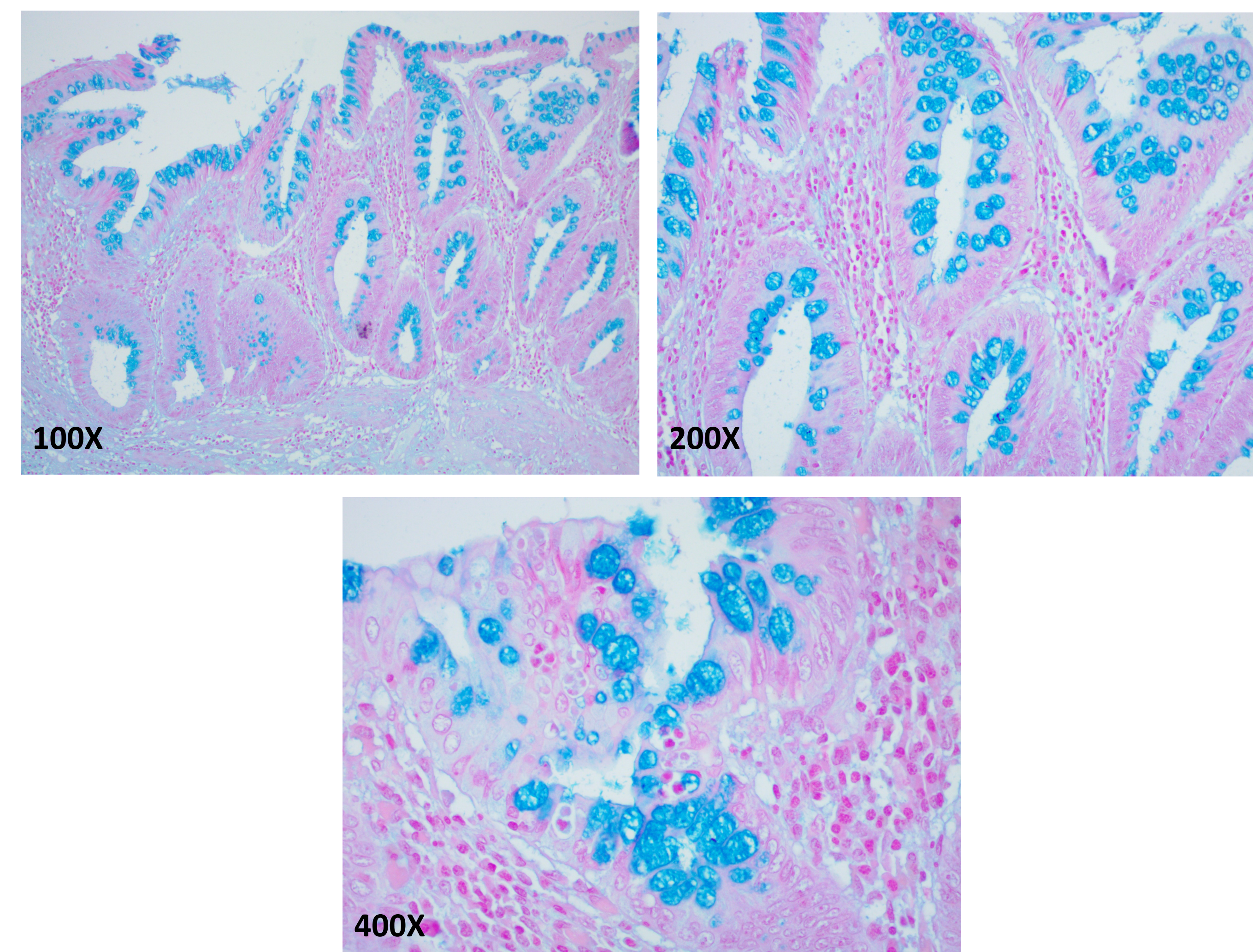
Voor de optimalisatie werd één coupe gekleurd en beoordeeld aan de hand van aankleuringscriteria. Voor de verificatie bestond de beoordeling uit het evalueren van drie performantiekarakteristieken, nl. de accuraatheid, sensitiviteit en specificiteit. De accuraatheid werd bepaald door de juistheid en precisie. Om de juistheid te bepalen werden vijf celblokken gebruikt waarvan elk één coupe werd gekleurd. Voor de precisie kleurden twee medisch laboratoriumtechnologen (MLT) elk vijf coupes van dezelfde celblok. Voor de sensitiviteit en specificiteit werden geen extra coupes gekleurd. De kleuringsprocedure is te zien in tabel 1.

Tabel 1. Alcian Blue kleuringsprocedure.

Procedure	
Deparaffineren	Xyleen, 5 min
Verwijderen xyleen	Ethanol 99%, 5 min
Hydratatie	Kraantjeswater, 1 min
Alcian Blue pH 2,5	10 druppels, 30 min
Natrium tetraboraat	10 druppels, 10 min
Wasstap	Kraantjeswater
Carmalum	10 druppels, 5 min
Wasstap	Kraantjeswater

Resultaten

Om te evalueren of de aankleuringscriteria voor de optimalisatie behaald werden, kreeg de gekleurde coupe een score tussen nul en acht. De scorecriteria hiervoor zijn weergegeven in tabel 2 en de scoring zelf in tabel 3. De bepaling van de score is gebaseerd op figuur 1.



Figuur 1. Alcian Blue kleuring van een appendix in verschillende vergrotingen.

Tabel 2. Score-criteria van de Alcian Blue kleuring bepaald aan de hand van intensiteit (I), uniformiteit (U), specificiteit (S), afwezigheid achtergrond (A) en tegenkleuring (T). Overgenomen uit Praktijkrichtlijn voor het opzetten van een kwaliteitssysteem in de erkende laboratoria voor pathologische anatomie werkzaam binnen het kader van het Erkenningsbesluit (in toepassing van het KB van 5 december 2011) door subwerkgroep praktijkrichtlijn, werkgroep nomenclatuur/regelgeving, commissie voor pathologische anatomie; 2022.^[2]

Kleur-criteria	Score-criteria			
	0	1	2	3
I	Geen	Zwak	Matig	Sterk
U	Geen	Uniform	/	/
S	Geen	Specifiek	/	/
A	Sterk	Matig	Geen	/
T	Onvoldoende	Voldoende	/	/

Tabel 3. Scoring van de optimalisatie van de Alcian Blue kleuring aan de hand van de score-criteria van tabel 1.

Kleur-criteria	Score
I	3
U	1
S	1
A	2
T	1
Totaal	8

Voor de verificatie werden de juistheid en precisie van de gekleurde coupes beoordeeld. Samen geven ze een beeld van de accuraatheid, de mate van overeenstemming tussen het gemeten en het werkelijk resultaat^[2].

Tabellen 4 en 5 geven de scores van deze performantiekarakteristieken weer. Doordat 100% van alle stalen zowel voor juistheid als precisie een score van 8 hebben, mag geoordeeld worden dat ook de sensitiviteit en specificiteit een score van 8 hebben.

Tabel 4. Evaluatie van de juistheid aan de hand van de score-criteria van tabel 1.

Staal	Evaluatie					tot	Aankleurings-criteria
	I	U	S	A	T		
1	3	1	1	2	1	8	Ok
2	3	1	1	2	1	8	Ok
3	3	1	1	2	1	8	Ok
4	3	1	1	2	1	8	Ok
5	3	1	1	2	1	8	Ok

Tabel 5. Evaluatie van de precisie aan de hand van de score-criteria van tabel 1. Elke MLT'er kleurde vijf coupes. Alle coupes van beide MLT'ers kregen hetzelfde resultaat.

Stalen MLT 1 en MLT 2	Evaluatie					tot	Aankleurings-criteria
	I	U	S	A	T		
1	3	1	1	2	1	8	Ok
2	3	1	1	2	1	8	Ok
3	3	1	1	2	1	8	Ok
4	3	1	1	2	1	8	Ok
5	3	1	1	2	1	8	Ok

Conclusie

De verificatie van de Alcian Blue pH 2,5 (Bio-Optica) kleurkit voldoet aan de vooropgestelde eisen en mag in de routine geïmplementeerd worden zodra de huidige voorraad van de Alcian Blue Staining Kit (Roche Diagnostics) is opgebruikt.

Referenties

- [1] Dewachter K. Methodevalidatie Alcian Blue (Bio-Optica). AZ Sint-Maarten; 2022; ANA.VDD.HK.00007 v1.0.
- [2] Subwerkgroep praktijkrichtlijn, werkgroep nomenclatuur/regelgeving, commissie voor pathologische anatomie. Praktijkrichtlijn voor het opzetten van een kwaliteitssysteem in de erkende laboratoria voor pathologische anatomie werkzaam binnen het kader van het Erkenningsbesluit (in toepassing van het KB van 5 december 2011) [Internet]. Versie 2. België: Scienscano; 2022. [Geraadpleegd op 31 mei 2022]. Beschikbaar op: https://www.wiv-isp.be/qml/commission-anapath/document_nl/Praktijkrichtlijn%20AP_versie%202_final_signed.pdf