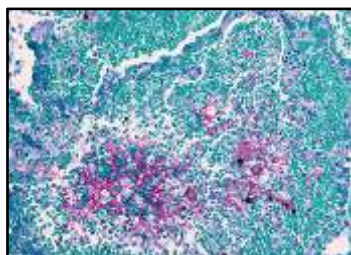


Light Green for PAS

REF

860-010

05279267001

IVD
 75


Figur 1. Light Green for PAS-farging av sopporganismer i lungevev.

TILTENKT BRUK

Light Green for PAS er ment for laboratoriebruk for å farge ikke-målevskomponenter og gi kontrast mot målfarger i formalinfikserte, parafinnstøpte (FFPE) vevssnitt på et BenchMark Special Stains-instrument. Dette reagenset er tiltenkt bruk som en kontrastfarge i bruksområder med spesielle farginger. Dette produktet er beregnet på in vitro-diagnostisk bruk (IVD).

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Light Green for PAS er en kontrastfarge med én enkelt flaske som brukes i kombinasjon med PAS Staining Kit. PAS Staining Kit er en modifisering av en teknikk som opprinnelig ble beskrevet av McManus i 1946 for å visualisere muciner, glykogen, basalmembran og sopporganismer gjennom kombinasjonen av oksidasjon av polysakkarider med perjodsyre og farging med Schiff-reagenset.¹

PROSEDYREPRINSIPP

PAS Staining Kit bruker Periodic Acid-reagens for å oksidere glykoler til aldehyder. Schiff-reagenset danner en fargeløs dialdehydforbindelse som transformeres til magentafarging av glykolholdige cellulære komponenter.² Light Green for PAS-reagens brukes i stedet for eller i tillegg til Hematoxylin som følger med i PAS Staining Kit. Light Green for PAS farger bakgrunnen lysegrønn, mens PAS Staining Kit farger soppvevselementene magenta.

Dette kitet er optimalisert for bruk på BenchMark Special Stains-instrumenter. Reagenset påføres på vev på objektglass for mikroskop og blandes over hele prøven.

MEDFØLGENDE MATERIALER

Reagensbeholderen leveres i strekkodemarkerte stativer som skal settes inn i reagensbrettet på instrumentet. Hvert kit inneholder tilstrekkelig reagens til 75 tester:

Én 15 mL beholder med Light Green for PAS inneholder ca. 1 % Light Green SF Yellowish i en 1 % eddiksyreløsning.

Én beholderinnsats med sugerør.

Rekonstitusjon, blanding, fortynning, titrering

Ingen rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av kitreagens er nødvendig. Videre fortynning av reagenset kan føre til utilfredsstillende fargingskvalitet.

Reagenset i dette settet er optimalt fortynnet for bruk på BenchMark Special Stains-instrumentet.

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE MEDFØLGER

Ikke alle produkter som er oppgitt i metodearket, er tilgjengelige i alle markeder. Kontakt lokal brukerstøtte.

Følgende reagenser og materialer vil kunne være påkrevd til farging, men følger ikke med:

1. Anbefalt kontrollvev
2. Objektglass for mikroskop, positivt ladete
3. BenchMark Special Stains-instrument
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (kat. nr. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (kat. nr. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (kat. nr. 860-041 / 08309817001)
7. PAS Staining Kit (kat. nr. 860-014 / 05279291001)

8. Laboratorieutstyr til generelle formål

OPPBEVARING OG STABILITET

Light Green for PAS skal oppbevares ved 15–30 °C.

Når åpnete og uåpnede reagenser oppbevares på riktig måte, er de stabile til datoen angitt på etiketten. Reagenset skal ikke brukes etter utløpsdatoen.

Det er ikke noen åpenbare tegn som vil kunne indikere ustabilitet i disse reagensene. Kontroller bør derfor kjøres samtidig med ukjente prøver. Kontakt lokal brukerstøtte hvis positivt kontrollmateriale viser en reduksjon i farging, siden det kan indikere reagensustabilitet.

KLARGJØRING AV PRØVEN

Rutinemessig prosesserte, formalinfikserte, parafinnstøpte (FFPE) vev er nødvendige for bruk med denne analysen og BenchMark Special Stains. Anbefalt vevsfiksativ er 10 % nøytralt bufret formalin.²

Utfør prøvetaking og -oppbevaring i samsvar med CLSI-dokument M29-T2.³ Skjær snitt til egnet tykkelse, ca. 4 µm, og plasser snittene på positivt ladete objektglass.

1. Tørk objektglassene.²
2. Skriv ut egnede strekkodeetiketter.
3. Påfør strekkodeetiketter på den frostede enden av objektglassene før objektglassene lastes inn på instrumentet (se instrumentets brukerhåndbok for riktig påføring av etiketter).

Se avsnittet Bruksanvisning for den anbefalte protokollen for BenchMark Special Stains-instrumentet.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Til in vitro-diagnostisk bruk (IVD).
2. Kun til profesjonell bruk.
3. **FORSIKTIG:** I USA begrenser føderal lov denne enheten til å selges av eller på bestilling fra en lege. (Rx Only)
4. Skal ikke brukes utover det spesifiserte antallet tester.
5. Positivt ladete objektglass kan være følsomme for miljøpåvirkning, noe som kan føre til feilaktig farging. Be Roche-representanten din om mer informasjon om hvordan du bruker disse objektglasstypene.
6. Materiale som stammer fra mennesker eller dyr, skal håndteres som smittefarlig biologisk materiale og kastes i henhold til korrekt prosedyre. Dersom en person har vært utsatt for slikt materiale, skal helsedirektivene fra myndighetene følges.^{4,5}
7. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne og slimhinner. Hvis reagenser kommer i kontakt med sensitive områder, må du skylle med rikelige mengder vann.
8. Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagenser, da det kan gi feil resultater.
9. Rådfrå deg med lokale og/eller nasjonale myndigheter når det gjelder anbefalte metoder for avfallshåndtering.
10. Hvis du vil ha mer informasjon om bruken av denne enheten, kan du se brukerhåndboken for BenchMark Special Stains-instrumentet og bruksanvisningen for alle nødvendige komponenter som finnes på dialog.roche.com.
11. Produktsikkerhetsmerking følger primært EU GHS-veiledningen. Sikkerhetsdataark er tilgjengelige for profesjonelle brukere på anmodning.
12. Hvis du trenger å rapportere mistenkte alvorlige hendelser knyttet til denne enheten, kontakter du den lokale Roche-representanten og den ansvarlige myndigheten i medlemslandet der brukeren holder til.

BRUKSANVISNING

Klargjør reagensglass

Før første gangs bruk må en beholderinnsats og et sugerør plasseres i reagensbeholderen.

Fjern transportetten fra beholderen, og plasser innsatsen og sugerøret i beholderen. Innsatsen og sugerøret skal være igjen i beholderen straks beholderen er åpnet.

Fargingsprosedyre

1. Last reagenser og objektglass inn på instrumentet.
2. Plasser den myke hetten i spalten på reagensholderen når reagenset er i bruk.
3. Utfør fargekjøringen i samsvar med den anbefalte protokollen i Tabell 1 og instruksjonene i brukerhåndboken.
4. Når kjøringen er fullført, må du fjerne objektglassene fra instrumentet.
5. Bruk den myke hetten til å dekke reagensbeholderen når reagenset ikke er i bruk.

6. Oppbevar reagensene etter bruk i samsvar med de anbefalte oppbevaringsvilkårene.

Anbefalt protokoll

Parameterne for de automatiserte prosedyrene kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til prosedyren i instrumentets brukerhåndbok.

Følgende prosedyrer muliggjør fleksibilitet og kan tilpasses brukernes preferanse. Dette produktet er optimalisert for bruk med BenchMark Special Stains-instrumenter, men brukeren må validere resultater oppnådd med dette produktet.

Tabell 1. Anbefalt fargeprotokoll for Light Green for PAS på et BenchMark Special Stains-instrument.

Fargingsprosedyre	S PAS
Protokolltrinn	Metode
Avparafinisering	Velg for å automatisere parafinjerning.
Baking (valgfritt)	Standard er ikke valgt. 75 °C i 4 minutter anbefales.
Light Green	Standard er ikke valgt. Velg for å aktivere Light Green og alternativer for Light Green.
Diastase for PAS Light Green* (valgfritt)	Ikke valgt. Dette alternativet må valideres av brukeren.
Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)	Standard er 45 °C i 20 minutter. Velg for å aktivere justering av fargingsintensitet.** Velg en temperatur fra 37–60 °C: 37 °C, lysere Schiff-fargingsintensitet 60 °C, mørkere Schiff-fargingsintensitet Velg en inkubasjonstid fra 12 til 20 minutter: 12 minutter, lysere Schiff-fargingsintensitet 20 minutter, mørkere Schiff-fargingsintensitet
Hematoxylin for Light Green (valgfritt)	Standard er ikke valgt. Velg for å aktivere bruk av Hematoxylin-kjernefarge (anbefalt).

* Ytterligere prosedyrealternativer er tilgjengelige for produkter som kan brukes i kombinasjon med PAS Staining Kit og Light Green for PAS.

** Juster fargingspreferanser ved å endre fargetemperaturen og inkubasjonstiden én parameter om gangen.

Anbefalt prosedyre etter instrumentprosessering

1. Skyll objektglass i to omganger med 95 % etanol for å fjerne gjenværende løsning, etterfulgt av tre omganger med 100 % etanol.
2. Dehydrer objektglass i tre omganger med 100 % xylene.
3. Dekkglass med permanent monteringsmedium.

Kompatibel med VENTANA HE 600-systemets protokoll for påføring av dekkglass. Se brukerhåndboken for VENTANA HE 600-systemet for mer informasjon.

PROSEDYRE FOR KVALITETSKONTROLL

Et eksempel på et positivt kontrollmateriale er humant FFPE-vev som er kjent positivt for soppororganismer. Kontrollvev skal være prøver fra nylig foretatt obduksjon, biopsi eller operasjon som er klargjort eller fiksert så snart som mulig på samme måte som testsnittene. Slike vev skal overvåke alle trinn i analysen, fra vevsklargjøring til farging.

Bruk av et vevssnitt som er fiksert eller prosessert på en annen måte enn testprøven, gir kontroll for alle reagenser og metodetrinn bortsett fra fiksering og vevsprosessering. Cellekomponentene i andre vevselementer kan fungere som negativ kontroll.

Optimal laboratoriepraksis er å inkludere et positivt kontrollsnitt på samme objektglass som testvevet. Dette hjelper til med å identifisere eventuelle feil ved bruk av reagenser på objektglasset. Kontrollvev kan inneholde både positive og negative fargingselementer og fungere som vev til både positiv og negativ kontroll.

Kontrollvevet må testes for hver kjøring.

Kjente positive vevskontroller bør kun benyttes for å overvåke korrekt ytelse for prosesserte vev og testreagenser, ikke som hjelpemiddel ved formulering av en spesifikk diagnostikk av pasientprøver.

Hvis de positive vevskomponentene ikke viser positiv farging, skal resultater med testprøvene anses som ugyldige. Hvis de negative komponentene viser positiv farging, bør resultater med pasientprøver også vurderes som ugyldige.

Uforklarlige avvik i kontrollresultater skal henvises til lokal brukerstøtte umiddelbart. Hvis kvalitetskontrollresultatene ikke oppfyller spesifikasjonene, er pasientresultatene ugyldige. Årsaken må identifiseres og korrigeres, og pasientprøvene må gjentas.

FARGINGSTOLKNING / FORVENTEDE RESULTATER

Light Green for PAS, brukt i kombinasjon med PAS Staining Kit, er testet for å gi en kontrasterende bakgrunn for å bistå i påvisningen av soppororganismer.

- Soppororganismer: magenta
- Kjerner: blågrønn
- Bakgrunn: lysegrønn

SPESIFIKKE BEGRENSNINGER

Bare positivt ladete objektglass for mikroskop er brukt og validert for denne analysen.

YTELSESEGENSKAPER

ANALYTISK YTELSE

Det ble gjennomført fargingstester for sensitivitet, spesifisitet og presisjon, og resultatene er oppført nedenfor.

Sensitivitet og spesifisitet

Analytisk sensitivitet og spesifisitet for normale og syke vevstilfeller ble evaluert. Alle evaluerte vevstilfeller (69/69) fikk bestått for akseptabel farging slik det fremgår av tabell 2 og tabell 3.

Tabell 2. Sensitiviteten/spesifisiteten til Light Green for PAS ble bestemt ved å teste følgende normale FFPE-vev.

Vev	Antall bestått / antall testet
Lunge	1/1
Hud	4/4

Tabell 3. Sensitiviteten/spesifisiteten til Light Green for PAS ble bestemt ved å teste følgende syke FFPE-vev.

Vev	Antall bestått / antall testet
Candida (forskjellige vevstyper)	8/8
Aspergillus (forskjellige vevstyper)	43/43
Blastomyces (forskjellige vevstyper)	3/3
Mukormykose (forskjellige vevstyper)	5/5
Koksidioidomykose (lunge)	2/2
Histoplasmose (forskjellige vevstyper)	3/3

Presisjon

Presisjonen til Light Green for PAS ble bestemt over flere kjøring, dager, instrumenter og reagensloter med flere objektglass med snitt fra 3 tilfeller med lungevev og Aspergillus-infeksjon og 3 tilfeller med spiserørvev og Candida-infeksjon. Alle akseptkriterier ble oppfylt fullt ut. Presisjonsstudier ble utført for Light Green for PAS i samsvar med tabell 4.

Tabell 4. Presisjonstudier på objektglass for Light Green for PAS.

Testede parametere	Antall vilkår	Antall bestått / Antall testet
Mellom kjøring	3 kjøring, samme dag	54/54
Mellom dager	5 dager	90/90
Mellom instrumenter	3 instrumenter	54/54
Innenfor kjøring	samme dag, samme instrument	54/54
Lot til lot	3 loter	54/54

Resultatene viste ingen signifikant differanse i fargingsintensitet blant objektglassene.

FEILSØKING

1. Snittykkelse kan påvirke kvalitet og fargingsintensitet. Hvis fargingen er uegnet, må du kontakte lokal brukerstøtte for å få hjelp.
2. Nekrotisk eller autolyser vev kan vise ikke-spesifikk farging.
3. Hvis den positive kontrollen er negativ, kan vev ha blitt feil samlet inn, fiksert eller avparafinert. Riktig prosedyre må følges ved innsamling, oppbevaring og fiksering.
4. Hvis den positive kontrollen er negativ, skal det kontrolleres at objektglasset har riktig strekkodeetikett. Hvis objektglasset merkes på riktig måte, må du kontrollere de andre positive kontrollene fra samme kjøring for å avgjøre om kontrollene ble farget på riktig måte.
5. Hvis det forekommer for mye bakgrunnsfarging: Ufullstendig parafinjerning kan forårsake fargingsartefakter eller ingen farging. Hvis all parafin ikke fjernes fra objektglasset, må du gjenta fargekjøringen med det utvidede avparafiniseringsalternativet, hvis det er tilgjengelig.
6. Hvis vevssnitt vaskes av objektglasset, må du bekrefte at objektglassene er positivt ladet.
7. Hvis objektglassene blir værende for lenge i instrumentet etter endt kjøring, kan det påvirke fargingskvalitet og intensitet. Hvis fargingen er uegnet, må du fjerne objektglassene umiddelbart etter endt kjøring og fortsette med prosedyren etter instrumentprosessering.
8. Du finner korrigerende tiltak i avsnittet Bruksanvisning i instrumentets brukerhåndbok eller ved å kontakte lokal brukerstøtte.

REFERANSER

1. Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier; 2019. Accessed 02/15/2021.
2. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI Web site. <http://www.clsi.org/>. Accessed November 3, 2011.
4. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
5. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

MERK: Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Det brukes ikke skilletegn for tusener.

Symboler

Ventana bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er oppført i ISO 15223-1-standard (for USA: se dialog.roche.com for definisjon av symboler som brukes):



Globalt artikkelnummer



Unik utstyrsidentifikator



Angir foretaket som importerer det medisinske utstyret til EU

OPPHAVSRETT

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE og VENTANA-logoen er varemerker for Roche. Alle andre varemerker tilhører sine respektive eiere.

Tilføyelser, slettinger eller endringer er merket med en strek i marginen.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTINFORMASJON



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

