

Alu Positive Control Probe

REF 800-2845

05278694001

IVD  50

TILTENKT BRUK

Alu Positive Control Probe er en cocktail av oligonukleotidprober merket med fluorescein som er tiltent bruk i laboratorium som positiv kontroll for å bestemme konserveringen av DNA under prøvetaking, -behandling og -håndtering, i snitt av formalinfiksert, parafininnstøpt vev på et BenchMark IHC/ISH-instrument.

Dette produktet skal tolkes av en kvalifisert patolog i sammenheng med en histologisk undersøkelse, relevant klinisk informasjon og egnede kontroller.

Dette produktet er beregnet på in vitro-diagnostisk bruk (IVD).

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Det tiltente målet for Alu Positive Control Probe er Alu-repetisjons-DNA-sekvensen som finnes i cellekjernene i alt vev. Alu Positive Control Probe er nyttig for å bestemme bevaring av DNA under prøvetaking, prosessering, fiksering og håndtering.

Alu Positive Control Probe skal kjøres under analyseverifisering og feilsøking siden DNA-tilgjengelighet kan variere avhengig av fikseringsmetode og forbehandling av prøven.

PROSEDYREPRINSIPP

Alu Positive Control Probe er optimalt formulert for bruk med VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit og tilbehørsreagenser på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Under Blue ISH-fargingsprosessen hybridiseres den fluoresceinmerkede proben til spesifikke mål-DNA-sekvenser i vev. Anti-fluorescein-antistoffet etterfølges av tilsetning av et biotinyler anti-mus-antistoff fra geit. Dette trinnet etterfølges av tilsetning av Streptavidin-AP (alkalisk fosfatase)-enzymkonjugat som binder til biotinet på det sekundære antistoffet. Den fluoresceinmerkede proben visualiseres deretter med 5-brom-4-klor-3-indolylfosfat (BCIP) og nitroblått tetrazolium (NBT)-kromogen, som produserer et blått presipitat. Prøven kan deretter kontrastfarges og påføres dekkglass. Resultatene tolkes ved hjelp av et lysmikroskop. Alu Positive Control Probe brukes med VENTANA-påvisningsreagenser og tilbehørsreagenser, samt BenchMark IHC/ISH-instrument som en kontroll i ISH-fargingsapplikasjoner.

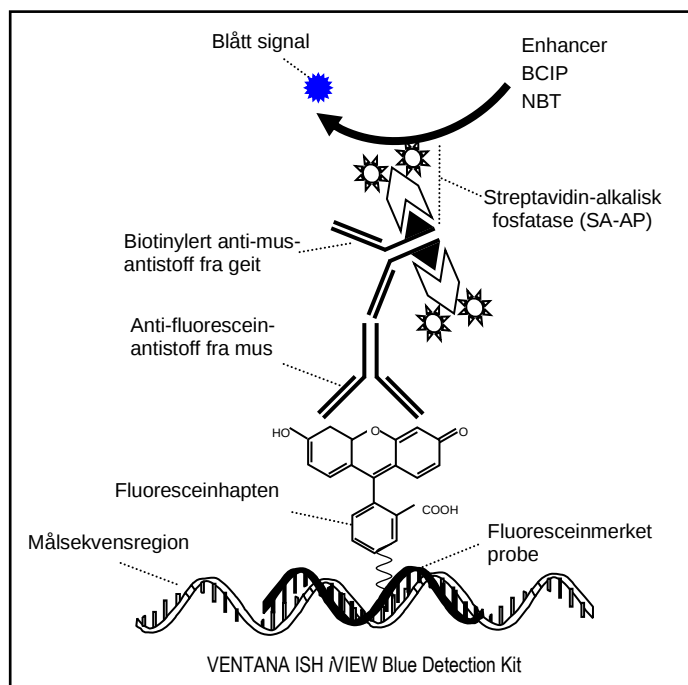
Figur 1 illustrerer Blue ISH-reaksjonen.

MEDFØLGENDE MATERIALER

Alu Positive Control Probe inneholder tilstrekkelig reagens til 50 tester.

En 5 mL dispenser med Alu Positive Control Probe inneholder ca. 500 ng/mL av proben merket med fluorescein, formulert i en formamidbasert hybridiseringsbuffer.

Se riktig metodeark for VENTANA-deteksjonskit for den detaljerte beskrivelsen av: Prosedyreprinsipp, Materialer og metoder, Prøvetaking og klargjøring for analyse, Prosedyre for kvalitetskontroll, Feilsøking, Tolkning av resultater og Begrensninger.



Figur 1. Blue ISH-reaksjon.

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE MEDFØLGER

Fargereagenser som VENTANA-deteksjonskit og tilleggskomponenter, inkludert objektglass med negativ og positiv vevskontroll, medfølger ikke.

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 proben:

1. VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit (kat. nr. 800-092 / 05278511001)
2. ISH Protease 3 (kat. nr. 780-4149 / 05273331001)
3. Red Counterstain II (kat. nr. 780-2218 / 05272017001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. nr. 950-300 / 05353955001)
5. 10X SSC (kat. nr. 950-110 / 05353947001)
6. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. nr. 950-102 / 05279771001)
7. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC2) (kat. nr. 950-223 / 05424542001)
8. LCS (Low Temperature) (kat. nr. 250-009 / 05260981001)
9. ULTRA LCS (Predilute) (kat. nr. 650-210 / 05424534001)
10. Objektglass for mikroskop, positivt ladet
11. BenchMark IHC/ISH-instrument
12. Laboratorieutstyr til generelle formål

OPPBEVARING OG STABILITET

Ved mottak og når det ikke er i bruk, må det oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses.

For å sikre korrekt tilførsel av reagenser og stabilitet av antistoffet skal dispenserlokket settes på igjen og dispenseren umiddelbart settes i kjøleskapet i stående posisjon etter hver kjøring.

Hver probedispenser har en utløpsdato. Når reagenset oppbevares på riktig måte, er det stabilt frem til datoen som står på etiketten. Reagenset skal ikke brukes etter utløpsdatoen.

KLARGJØRING AV PRØVEN

Rutinemessig prosesserte formalinfiksede, parafininnstøpte vev egner seg for bruk med denne proben når den brukes med et BenchMark IHC/ISH-instrument. Det anbefalte vevsfiksativet er 10 % nøytralt bufret formalin.¹ Objektglass bør farges umiddelbart, siden kvaliteten på nukleinsyremaal i avskårne vevssnitt kan bli svekket over tid.

Det anbefales at positive og negative kontroller kjøres samtidig med ukjente prøver. Snitt tykkere enn 4 µm kan kreve kraftigere proteasebehandling enn under anbefalte forhold og kan vise mer nukleær bobledannelse enn tynnere snitt på grunn av for mye parafin i vevet. Nukleær bobledannelse vises som små eller store bobler eller vakuoler i cellekjerner. Vanligvis forstyrrer ikke denne artefakten signaloppstilling. Alvorlige tilfeller av nukleær bobledannelse kan midlertid forstyrre kjernene eller signalet, slik at telling ikke er mulig. Disse prøvene må kanskje avparafiniseres i xylen- og alkoholbad før gjentatt farging på instrumentet, eller brukeren kan velge det utvidede avparafiniseringsalternativet i fargingsprosedyren (se Feilsøking).

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. **Advarsel, produktet inneholder formamid.** Formamid er toksisk ved innånding og moderat toksisk ved svelging. Det irriterer hud, øyne og slimhinner og absorberes gjennom huden. Det kan medføre fosterskade. Ta forholdsregler ved håndtering av reagenser. Bruk engangshansker og egnede verneklær ved håndtering av mulige kreftfremkallende stoffer eller toksisk materiale.
6. Materiale som stammer fra mennesker eller dyr, skal håndteres som potensielt biologisk smittefarlig og kastes i henhold til korrekt prosedyre. Dersom en person har vært utsatt for slikt materiale, skal helsedirektivene fra myndighetene følges.^{2,3}
7. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne, hud og slimhinner. Hvis reagenser kommer i kontakt med sensitive områder, må du skylle med rikelige mengder vann. Unngå innånding av reagenser.
8. Kontroller at avfallsbeholderen er tom før du starter en kjøring på instrumentet. Hvis ikke denne forholdsregelen overholdes, kan avfallsbeholderen flomme over, og brukeren risikerer å gli og falle.
9. Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagenser, siden dette kan produsere feil resultater.
10. Hvis du vil ha mer informasjon om bruken av denne enheten, kan du se brukerhåndboken for BenchMark IHC/ISH-instrumentet og bruksanvisningen for alle nødvendige komponenter som finnes på dialog.roche.com.
11. Kontakt lokale og/eller nasjonale myndigheter for å få anbefalte metoder for avfallshåndtering.
12. Produktsikkerhetsmerking følger primært EU GHS-veiledningen. Sikkerhetsdataark er tilgjengelige for profesjonelle brukere på anmodning.
13. 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.

Dette produktet inneholder komponenter som er klassifisert som følger, i samsvar med forordning (EF) nr. 1272/2008:

Tabell 1. Informasjon om farer

Fare	Kode	Setning
	H351	Mistenkt for å kunne forårsake kreft.
	H360D	Kan gi fosterskader.
	H373	Kan forårsake organskader ved langvarig eller gjentatt eksponering.
	P201	Innhent særskilt instruks før bruk.
	P202	Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
	P260	Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
	P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsskerm/hørselvern.
	P308 + P313	Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

Fare	Kode	Setning
	P501	Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsanlegg.

Dette produktet inneholder CAS-nr. 75-12-7, formamid.

FARGINGSPROSEDYRE

VENTANA-probene er utviklet for bruk på et BenchMark IHC/ISH-instrument sammen med VENTANA-deteksjonskit og tilbehør. Anbefalte fargingsprosedyrer og fargeprotokoller for Alu Positive Control Probe på BenchMark IHC/ISH-instrumentene er oppført i tabell 2 og tabell 3.

Parameterne for de automatiserte prosedyrene kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til prosedyren i instrumentets brukerhåndbok. Se det aktuelle metodearket for VENTANA-deteksjonskit for mer informasjon.

For mer informasjon om riktig bruk av denne enheten, se metodearket for inline-dispenseren med P/N 800-2845.

Tabell 2. Bruk følgende fargingsprosedyrer for å utføre Alu Positive Control Probe på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Instrumentplattform	Fargingsprosedyre
BenchMark GX	INFORM Alu Ctrl iVIEWBlue V.1
BenchMark XT	XT INFORM Alu Ctrl iVIEW Blue v3
BenchMark ULTRA og BenchMark ULTRA PLUS	U INFORM Alu Ctrl iVIEW Blue ISH

Tabell 3. Anbefalte fargingsforhold for Alu Positive Control Probe på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Fargingsforhold	GX	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS ^a
Avparafinisering	Valgt	Valgt	Valgt
Cell Conditioning-alternativ	CC, Standard	CC, Standard	ULTRA CC2, Mild
ISH Protease 3	16 minutter	16 minutter	4 minutter
Probe	Alu Positive Control Probe	Alu Positive Control Probe	Alu Positive Control Probe
Kontrastfarge	Red Counterstain II, 4 minutter	Red Counterstain II, 4 minutter	Red Counterstain II, 4 minutter

^a Konkordans ble vist mellom BenchMark ULTRA- og BenchMark ULTRA PLUS-instrumenter ved bruk av representative analyser.

På grunn av variasjonen i vevsfiksering og prosessering, og i generelle laboratorieinstrumenter og miljømessige betingelser, kan det være nødvendig å øke eller redusere probehybridiseringen, cellekondisjoneringen eller proteaseforbehandlingen, basert på individuelle prøver, påvisningen som brukes, og leserens preferanser.

PROSEDYRE FOR KVALITETSKONTROLL

Positiv prøvekontroll

En laboratoriespesifikk positiv prøvekontroll kan brukes sammen med hver fargingsprosedyre som utføres. Kontrollprøver kan være prøver fra biopsi, kirurgi eller nylig foretatt obduksjon som er klargjort på samme måte som pasientprøver. Slike kontroller må brukes til å kontrollere alle trinn i prosedyren, fra klargjøring av prøven til farging. Hvis en kontrollprøve klargjøres annerledes fra testprøvene, gir det en kontroll for reagensene, instrumentet og prosedyrene, ikke for fiksering og prøvebehandling. Resultater med testprøvene bør analyseres i samme kjøring.

Negativ prøvekontroll

En negativ prøvekontroll skal kjøres med hver utførte fargingsprosedyre. Formålet er å overvåke utilsiktet kryssreaktivitet for probe og antistoff med cellekomponenter. Samme prøve som ble brukt til den positive prøvekontrollen, kan også brukes som negativ prøvekontroll. Variasjonen i forskjellige celletyper som finnes i de fleste prøver, fungerer som interne negative kontrollsteder, men dette bør bekreftes av brukeren. Ikke-fargingskomponentene skal vise fravær av spesifikk farging og indikere bakgrunnsfarging. Hvis uakseptabel farging forekommer på stedene med negativ prøvekontroll, skal resultat med pasientprøvene vurderes som ugyldig.

Negativ reagenskontroll

Negativ reagenskontroll skal erstattes med ISH-proben med hver farget prøve for å brukes som hjelpemiddel for å tolke hvert pasientresultat. Dette gir en indikasjon på ikke-spesifikk bakgrunnsfarging for hvert objektglass. I stedet for ISH-proben må objektglasset farges med Negative Control Probe. Inkubasjonsperioden for kontroller skal tilsvare inkubasjonsperioden for proben.

Den negative kontrollen er særlig viktig med det funnet at den intestinale formen for alkalisk fosfatase finnes i andre celler enn bårstegrensene for intestinale epitelceller. Enzymer som kan redusere nitroblått tetrazolium, kan dessuten konserveres under fiksering.

Uforklarlige avvik

Uforklarlige avvik i kontroller skal rapporteres til lokal brukerstøtte umiddelbart. Hvis kvalitetskontrollresultatene ikke oppfyller spesifikasjonene, er pasientresultatene ugyldige. Se avsnittet Feilsøking i dette pakningsvedlegget. Identifiser og korrigér problemet, og kjør deretter pasientprøvene på nytt.

Analyseverifisering

Før første gangs bruk av et reagens i en diagnostisk prosedyre skal reagensets ytelse verifiseres ved å teste det på en serie prøver med positive og negative prøver med kjente ISH-ytelseegenskaper (se Prosedyrer for kvalitetskontroll tidligere beskrevet i dette avsnittet av pakningsvedlegget, anbefalingene for kvalitetskontroll fra College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁴ og NCCLS Approved Guideline⁵). Disse prosedyrene for kvalitetskontroll bør gjentas for hver nye lot med reagenser, eller når det er en endring i analyseparametrene.

FARGINGSTOLKNING / FORVENTEDE RESULTATER

Den automatiserte fargingsprosedyren for objektglassfarging fra VENTANA får et blåfarget reaksjonsprodukt til å presipitere ved mål-DNA-stedene lokalisert av den merkede proben. En kvalifisert patolog med erfaring fra mikroskopisk tolkning av anatomiske patologiprøver, i ISH-prosedyrer, må evaluere positive og negative kontroller før resultater tolkes.

Kontroller

Den fargede positive kontrollen skal undersøkes først for å sikre at alle reagenser fungerer som de skal. Forekomst av et blåfarget reaksjonsprodukt i målcellene tyder på positiv reaktivitet.

Den negative kontrollen skal undersøkes etter den positive kontrollen for å verifisere reaksjonens spesifisitet. Det bør ikke være noen spesifikk farging i den negative kontrollen. Hvis farging forekommer, kan det indikere ikke-spesifikk kryssreaktivitet med celler eller cellekomponenter. Intakte celler bør brukes til tolkning av fargingsresultater, siden nekrotiske eller degenererte celler ofte gir ikke-spesifikk farging.

Hvis den positive eller negative kontrollen ikke viser egnet farging, skal resultater med testprøvene vurderes som ugyldige.

Pasientprøve

Pasientprøver skal undersøkes sist. Positiv fargingsintensitet bør evalueres i sammenheng med bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Et negativt resultat betyr at den aktuelle DNA-sekvensen ikke ble påvist, ikke nødvendigvis at sekvensen er fraværende i de analyserte cellene. Morfologien til hver prøve bør også undersøkes ved å benytte et snitt som er farget med hematoksylin og eosin, ved tolkning av et ISH-resultat. Pasientens morfologiske funn og relevante kliniske data må tolkes av en kvalifisert patolog.

BEGRENSNINGER

Generelle begrensninger

- ISH er en diagnostisk metode i flere trinn som krever spesialisert opplæring i utvalgelse av egnede reagenser, klargjøring av prøver, prosessering, klargjøring av ISH-objektglasset og tolkning av resultatene.

- Vevsfarging er avhengig av håndteringen og prosesseringen av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminasjon med annet vev eller andre væsker kan frembringe artefakter, antistoffansamling eller falskt negative resultater. Inkonsekvante resultater kan være en konsekvens av variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder, eller uregelmessigheter i vevet.
- Kraftig eller ufullstendig kontrastfarge kan hindre riktig tolkning av resultater.
- Klinisk tolkning av farging må evalueres i lys av sykehistorie, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Det er en kvalifisert patologs ansvar å være fortrolig med reagensene og metodene som brukes til å produsere det fargede preparatet. Farging må utføres i et sertifisert, lisensiert laboratorium under tilsyn av en patolog som er ansvarlig for gjennomgang av de fargede objektglassene, og som kontrollerer at kontrollene er tilstrekkelige.
- VENTANA-reagenser leveres med optimal fortykning til bruk når den medfølgende veiledningen overholdes. Alle avvik fra anbefalte testprosedyrer kan gjøre forventede resultater ugyldige. Brukere må påta seg ansvar for tolkning av pasientresultater når de avviker fra de anbefalte testprosedyrene.
- På grunn av variasjoner i prøveprosessering kan det være nødvendig enten å øke eller redusere ISH-proteasebehandlingstiden eller å bruke en annen ISH-protease på individuelle prøver. Disse endringene må valideres av brukeren. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer, er ansvarlige for tolkning av pasientresultater under disse omstendighetene.
- Reagenser kan fremvise uventede reaksjoner i vevstyper som ikke har vært testet tidligere. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke helt utelukkes på grunn av vevens biologiske variabilitet. Kontakt lokal brukerstøtte med dokumenterte uventede reaksjoner.

Spesifikke begrensninger

- Når fluoresceinmerkede prøver og VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit brukes, kan cytoplasmisk farge og/eller kjemefarge observeres i epitelceller i gastrointestinalt vev. Bruk av Negative Control Probe er nødvendig for å påvise denne fargingen.
- Alle analyser vil kanskje ikke registreres på hvert instrument. Kontakt lokal brukerstøtte for mer informasjon.

YTELSESEGESKAPER

ANALYTISK YTELSE

Ytelsen til Alu Positive Control Probe ble evaluert gjennom sensitivitets-, spesifisitets- og presisjonsstudier. Følgende ytelseegenskaper ble demonstrert:

- Sensitivitet og spesifisitet for Alu Positive Control Probe-farging for et utvalg av normale og neoplastiske vevstyper. Alu-repetisjons-DNA-sekvensen ble påvist i cellekjernene i de fleste vevstyper og tumorer, med mangel på signifikant bakgrunn eller kryssreaktivitet.
- Spesifisiteten for Alu Positive Control Probe ved tilstedeværelse av signal på normalt (ubehandlet) humant miltvev og fravær av signal på DNase1-behandlet humant miltvev.
- Presisjon mellom loter for probe.
- Presisjon innen kjøring og mellom dager på et BenchMark ULTRA-instrument.
- Presisjon mellom instrumenter på et BenchMark GX-, BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrument.
- Presisjon mellom plattformer mellom BenchMark GX-, BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumentet.

Alle studiene oppfylte akseptkriteriene.

Presisjon på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet ble vist ved bruk av representative analyser. Studier inkluderte repetisjonsstudier innenfor kjøring, intermedier presisjon mellom dager og mellom kjøring. Alle studiene oppfylte akseptkriteriene.

FEILSØKING

Tabell 4. Feilsøkingssløsninger.

Problem	Løsning
Positiv kontroll er negativ.	Kontroller at objektglasset har riktig strekkodeetikett.

Problem	Løsning
Positiv kontroll er negativ eller viser svakere farging enn forventet.	Kontroller andre positive kontroller farget i samme fargekjøring for å avgjøre om feilen skyldes kontrollobjektglasset eller reagensene som ble brukt. Positive kontrollprøver anbefales for potensiell feilsøking for hver kjøring.
Vev vaskes av objektglass.	Kontroller at det brukes positivt ladede objektglass.
Snitt tykkere enn 4 µm viser nukleær bobledannelse på grunn av overskytende parafin.	Velg alternativet for utvidet avparafinisering i fargingsprosedyren.

REFERANSER

1. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
2. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
3. 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.
4. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
5. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.

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-standarden (for USA: se [dialog.ventanamedicalsystems.com](https://www.ventanamedicalsystems.com/usa/15223-1) for definisjon av anvendte symboler):



Globalt artikkelnummer



Unik utstyrsidentifikator



Angir foretaket som importerer det medisinske utstyret til EU

REVISJONSHISTORIKK

Rev	Oppdateringer
F	Oppdateringer av avsnittene Tiltent bruk, Sammendrag og forklaring, Prosedyreprinsipp, Medfølgende materialer, Materialer som er nødvendige, men som ikke medfølger, Oppbevaring og stabilitet, Klargjøring av prøven, Advarsler og forholdsregler, Fargingsprosedyre, Prosedyre for kvalitetskontroll, Fargingsstolkning / Forventede resultater, Begrensninger, Analytisk ytelse, Feilsøking, Referanser, Symboler, Opphavsrett og Kontaktinformasjon. La til BenchMark ULTRA PLUS-instrument.

OPPHAVSRETT

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

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

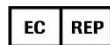
KONTAKTINFORMASJON



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA

+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventanamedicalsystems.com



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

