

Alu Positive Control Probe

REF 800-2845

05278694001

IVD Σ 50

AVSEDD ANVÄNDNING

Alu Positive Control Probe är en cocktail av oligonukleotid prober märkt med fluorescein som är avsedd för laboratorieanvändning som en positiv kontroll för att bestämma bevarandet av DNA under insamling, bearbetning, fixering och hantering av prover i sektioner av formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad på ett BenchMark IHC/ISH-instrument.

Denna produkt bör tolkas av en kvalificerad patolog tillsammans med en histologisk undersökning, relevant klinisk information och lämpliga kontroller.

Denna produkt är avsedd för användning vid in vitro-diagnostik (IVD).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Det avsedda målet för Alu Positive Control Probe är den Alu-upprepade DNA-sekvens som finns i cellkärnorna i all vävnad. Alu Positive Control Probe är användbar för att fastställa bevarandet av DNA under insamling, bearbetning, fixering och hantering av prover.

Alu Positive Control Probe bör köras vid analysverifiering och felsökning eftersom DNA-åtkomst kan variera beroende på fixeringsmetod och förbehandling av provet.

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

Alu Positive Control Probe är optimalt formulerad för användning med VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit och tillbehörsreagenser på BenchMark IHC/ISH-instrument.

Under Blue ISH-färgningsprocess är fluorescein-märkta stavar hybridiserade till en specifik DNA-målsekvens i vävnader. Den anti-Fluoresceina antikroppen följs av ett tillsättande av en biotinylerad anti-mus-antikropp från get. Det här steget följs av tillsättning av ett Streptavidin-AP (alkaliskt fosfatas) enzymkonjugat som binder till det biotin som finns på den sekundära antikroppen. Den fluorescein-märkta staven visualiseras sedan med 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP) och nitro-blå tetrazolium (NBT) kromogen, som avger en blå fällning. Provet kan sedan kontrastfärgas och täckas med täckglas. Resultaten tolkas med ett ljusmikroskop. Alu Positive Control Probe används med VENTANA-detektionsreagenser och tillbehörsreagenser samt BenchMark IHC/ISH-instrument som en kontroll vid appliceringar med ISH-färgning.

Fig. 1 illustrerar reaktionen med Blue ISH.

MATERIAL SOM MEDFÖLJER

Alu Positive Control Probe innehåller tillräckligt med reagens för 50 tester.

En 5 mL dispenser Alu Positive Control Probe innehåller ungefär 500 ng/mL av den prob som är märkt med fluorescein, formulerad i en formamidbaserad hybridiseringsbuffert.

Se lämpligt metodblad för VENTANA-detektionskit för en detaljerad beskrivning av:

Principer för proceduren, Material och metoder, Provinsamling och beredning för analys, Procedurer för kvalitetskontroll, Felsökning, Tolkning av resultaten och Begränsningar.

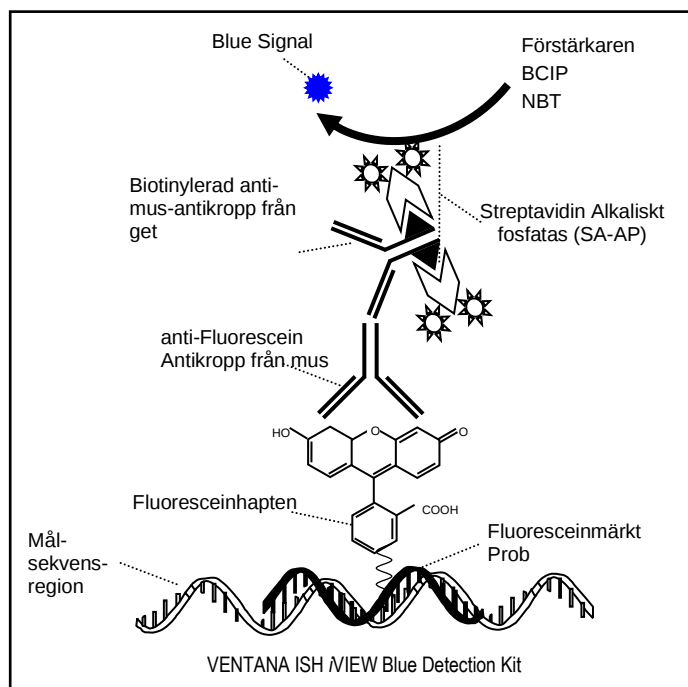


Fig. 1. Blue ISH-reaktion.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

Färgningsreagens som VENTANA -detektionskit och tillhörande komponenter, inklusive objektglas med negativa och positiva vävnadskontroller, medföljer inte.

Eventuellt är inte alla produkter i metodbladet tillgängliga i alla länder. Rådfråga din lokala supportrepresentant.

Följande reagenser och material kan behövas vid färgning men medföljer ej 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. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
11. BenchMark IHC/ISH-instrument
12. Laboratorieutrustning för allmänt bruk

FÖRVARING OCH STABILITET

Förvaras mellan 2–8 °C vid mottagandet och när den inte används. Får ej frysas.

För att garantera korrekt reagenstillförsel och antikroppens stabilitet måste locket på dispensern sättas på igen efter varje användning, och dispensern omedelbart placeras i kylskåp i upprätt läge.

Varje probdispenser är märkt med utgångsdatum. Vid korrekt förvaring är reagenset stabilt fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte reagenset efter detta utgångsdatum.

PROVBEREDNING

Rutinmässigt bearbetade, formalinfixerade, paraffinbäddade vävnader är lämpliga för användning med denna prob vid användning med ett BenchMark IHC/ISH-instrument.

Rekommenderat vävnadsfixeringsmedel är 10 % neutralbuffrad formalin.¹ Objektglaset bör färgas omedelbart, eftersom kvaliteten hos nukleinsyremål i skurna vävnadssnitt kan försämrats med tiden.

Det rekommenderas att positiva och negativa kontroller körs samtidigt som okända prover. Snitt tjockare än 4 µm kan kräva starkare proteasbehandling än det som rekommenderas och kan uppvisa mer kärnbubblor än tunnare snitt på grund av överskott av paraffin i vävnaden. Kärnbubblor framträder som stora eller små bubblor eller vakuoler i kärnorna. Vanligtvis stör inte denna artefakt signalmätningen. Emellertid kan allvariga fall av kärnbubblor förvränga kärnorna eller signalerna så att beräkning inte är möjlig. Dessa prover kan behöva avparaffineras i xylol- och alkoholbad innan man upprepar färgningen på instrumentet, eller så kan användaren välja det utökade avparaffineringsalternativet i färgningsproceduren (se Felsökning).

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För användning vid in vitro-diagnostik (IVD).
2. Endast för yrkesmässigt bruk.
3. Använd inte fler gånger än det angivna antalet tester.
4. **Varning! Produkten innehåller formamid.** Formamid är toxiskt vid inandning och måttligt toxiskt vid förtäring. Det är irriterande för hud, ögon och slemhinnor och absorberas genom huden. Det kan orsaka fosterskador. Vidta försiktighetsåtgärder vid hantering av reagenser. Använd engångshandskar och använd lämpliga skyddskläder när du hanterar misstänkta cancerframkallande ämnen eller toxiskt material.
5. Material av humant eller animaliskt ursprung ska hanteras som potentiellt biologiskt farligt och omhändertas i enlighet med tillämpliga försiktighetsåtgärder. Vid exponering ska de ansvariga myndigheternas hälsodirektiv följas.^{2,3}
6. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon, hud och slemhinnor. Om reagenser kommer i kontakt med känsliga områden ska dessa sköljas med stora mängder vatten. Undvik inandning av reagenser.
7. Se till att avfallsbehållaren är tom innan du startar en körning på instrumentet. Om denna försiktighetsåtgärd inte vidtas kan avfallsbehållaren bli överfylld och användaren riskerar att halka och ramla.
8. Undvik mikrobiell kontaminering av reagenser eftersom detta kan orsaka felaktiga resultat.
9. Ytterligare information om användningen av den här enheten finns i användarhandboken för BenchMark IHC/ISH-instrumentet och bruksanvisningarna för alla nödvändiga komponenter på navifyportal.roche.com.
10. Kontakta lokala och/eller statliga myndigheter för att fastställa rekommenderad metod för avfallshantering.
11. Produktsäkerhetsmärkningen följer främst EU:s GHS-vägledning. Säkerhetsdatablad finns tillgängligt för professionella användare på begäran.
13. För att rapportera misstänkta allvariga händelser relaterade till den här enheten ska man kontakta den lokala Roche-representanten och den behöriga myndigheten i den medlemsstat eller land där användaren är etablerad.

Denna produkt innehåller komponenter som klassificeras enligt följande i enlighet med Förordning (EG) nr 1272/2008:

Tab. 1. Information om risker

Risk	Kod	Uttalande
	H351	Misstänks orsaka cancer.
	H360D	Kan orsaka fosterskador.
	H373	Kan orsaka organskador vid långvarig eller upprepad exponering.
	P201	Följ specialinstruktioner före användning.
	P202	Hantera inte förrän alla säkerhetsåtgärder har lästs och förstås.
	P260	Andas inte in dimma eller ångor.
	P280	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd.
	P308 + P313	Vid exponering eller oro: Sök läkarhjälp.

Risk	Kod	Uttalande
	P501	Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

Denna produkt innehåller CAS-nr 75-12-7: formamid

FÄRGNINGSPROCEDUR

VENTANA-prober har utvecklats för användning på ett BenchMark IHC/ISH-instrument i kombination med VENTANA-detektionskit och tillbehör. Rekommenderade färgningsprocedurer och färgningsprotokoll för Alu Positive Control Probe på BenchMark IHC/ISH-instrument finns listade i Tab. 2 och Tab. 3.

Parametrarna för de automatiserade procedurerna kan visas, skrivas ut och redigeras i enlighet med metoden i instrumentets användarhandbok. Se respektive metodblad för VENTANA-detektionskit för mer information.

För ytterligare detaljer om korrekt användning av denna enhet, se metodbladet för den inbyggda dispensern som associeras med art.nr 800-2845.

Tab. 2. Använd följande färgningsprocedurer för att utföra Alu Positive Control Probe på BenchMark IHC/ISH-instrument.

Instrumentplattform	Färgningsprocedur
BenchMark GX	INFORM Alu Ctrl /VIEW Blue V.1
BenchMark XT	XT INFORM Alu Ctrl /VIEW Blue v3
BenchMark ULTRA och BenchMark ULTRA PLUS	U INFORM Alu Ctrl /VIEW Blue ISH

Tab. 3. Rekommenderade färgningsförhållanden för Alu Positive Control Probe på BenchMark IHC/ISH-instrument.

Färgningsförhållande	GX	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS ^a
Avparaffinering	Vald	Vald	Vald
Cell Conditioning-alternativ	CC, Standard	CC, Standard	ULTRA CC2, Mild
ISH Protease 3	16 minuter	16 minuter	4 minuter
Sökfragment	Alu Positive Control Probe	Alu Positive Control Probe	Alu Positive Control Probe
Kontrastfärgning	Red Counterstain II, 4 minuter	Red Counterstain II, 4 minuter	Red Counterstain II, 4 minuter

^a Överensstämmelse påvisades mellan BenchMark ULTRA- och BenchMark ULTRA PLUS-instrument med hjälp av representativa analyser.

På grund av variationer i vävnadsfixering och bearbetning samt generella laboratorieinstrument och omgivningsförhållanden, kan man behöva öka eller minska prob-hybridisering, cellkonditionering eller proteasförbehandling baserat på individuella prover, den detektering som används och läsarpreferens.

PROCEDURER FÖR KVALITETSKONTROLL

Positiv provkontroll

Ett laboratoriespecifikt prov för positiv kontroll kan användas för varje färgningsprocedur som utförs. Kontrollprover kan utgöras av prover från biopsi-, kirurgi- eller färsk obduktion förberedda på samma sätt som patientprover. Sådana kontroller är användbara för att övervaka alla steg i proceduren, från provberedning till färgning. Om ett kontrollprov bereds på ett annat sätt än testproverna ger det en kontroll av reagenser, instrument och procedurer, inte av fixering och probbearbetning. Resultaten med testproverna ska analyseras i samma körning.

En negativ provkontroll måste köras med varje färgningsprocedur som man utför. Syftet är att övervaka oavsiktlig korsreaktivitet för antikropp och prob med cellulära komponenter. Samma prov som används för den positiva provkontrollen kan också användas som den negativa provkontrollen. De många olika celltyperna som finns i de flesta proverna

erbjuder interna negativa kontrollplatser, men detta bör verifieras av användaren. Komponenterna som inte färgas bör visa frånvaro av specifik färgning och ge en indikation på bakgrunds färgning. Om oacceptabel färgning inträffar på de negativa provkontrollplatserna, bör resultaten med patientproverna betraktas som ogiltiga.

Negativ reagenskontroll

En negativ reagenskontroll bör bytas ut mot ISH-proben med varje prov som färgats för att underlätta tolkningen av varje patientresultat. Detta ger en indikation på icke-specifik bakgrunds färgning för varje objektglas. I stället för ISH-proben ska du färga objektglaset med Negative Control Probe. Inkubationsperioden för kontroller bör motsvara probens.

Den negativa kontrollen är särskilt viktig om man konstaterar att tarmformen av alkaliskt fosfat kan påvisas i andra celler än borstgränsen för epitelceller i tarmen. Dessutom kan enzymer som är kapabla att reducera nitro-blå tetrazolium bevaras under fixering.

Oförklarliga avvikelser

Oförklarliga avvikelser i kontrollerna bör omedelbart rapporteras till din lokala supportrepresentant. Om kvalitetskontrollresultaten inte uppfyller specifikationerna är patientresultaten ogiltiga. Se avsnittet Felsökning i denna bilaga. Identifiera och åtgärda problemet och upprepa sedan patientproverna.

Analysverifiering

Innan ett reagens används för första gången i ett diagnostiskt förfarande ska reagensets specificitet kontrolleras genom att det testas på en serie av positiva och negativa prover med kända ISH-prestandaegenskaper (se de procedurer för kvalitetskontroll som tidigare beskrivits i detta avsnitt av produktangivelsen och rekommendationerna av kvalitetskontroller från College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁴ och NCCLS Approved Guideline⁵). Dessa procedurer för kvalitetskontroll ska upprepas för varje ny lot av reagens, eller när det sker en ändring av analysparametrarna.

TOLKNING AV FÄRGNINGSRESULTAT/FÖRVÄNTADE RESULTAT

VENTANA-automatiserade färgningsprocedurer för objektglas gör att en blåfärgad reaktionsprodukt fälls ut vid de DNA-målplatser som lokaliserats av den märkta proben. En kvalificerad patolog med erfarenhet av mikroskopisk tolkning av anatomiska patologiska prover i ISH-förfaranden måste utvärdera både de positiva och negativa kontrollerna innan resultaten tolkas.

Kontroller

Den färgade positiva kontrollen bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Förekomst av en blåfärgad reaktionsprodukt i målcellen är en indikation på positiv reaktivitet.

Den negativa kontrollen bör undersökas efter den positiva kontrollen för att verifiera reaktionens specificitet. Det bör inte finnas någon specifik färgning i den negativa kontrollen. Om färgning förekommer kan det tyda på icke-specifik korsreaktivitet för celler eller cellkomponenter. Intakta celler ska användas vid tolkningen av färgningsresultaten eftersom nekrotiska eller degenererade celler ofta färgas ospecifikt.

Om den positiva eller negativa kontrollen inte uppvisar rätt färgning bör alla resultat för testproverna anses ogiltiga.

Patientprov

Patientprover ska undersökas sist. Positiv färgningsintensitet bör bedömas inom ramen för eventuell bakgrunds färgning av den negativa reagenskontrollen. Ett negativt resultat betyder att DNA-sekvensen i fråga inte detekterades, inte nödvändigtvis att sekvensen inte förekommer i de analyserade cellerna. Morfologin för varje prov bör också undersökas med användning av ett hematoxylin- och eosin-färgat snitt vid tolkning av eventuella ISH-resultat. Patientens morfologiska resultat och relevanta kliniska data måste tolkas av en kvalificerad patolog.

BEGRÄNSNINGAR

Allmänna begränsningar

- ISH är en metod i flera steg som kräver specialutbildning i valet av lämpliga reagenser och vävnader, provberedning, bearbetning, beredning av ISH-objektglas och tolkning av resultaten.
- Vävnadsfärgning är beroende av hantering och behandling av vävnaden innan färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, bindande antikroppar eller falska negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan vara en konsekvens av variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder eller inneboende regelbundenheter i vävnaden.

- Överdriven eller ofullständig kontrastfärgning kan förhindra korrekt tolkning av resultat.
- Den kliniska tolkningen av färgningen måste utvärderas inom ramen för klinisk historik, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Det är en kvalificerad patologs ansvar att känna till reagenserna och metoderna som används för att producera det färgade preparatet. Färgning måste utföras i ett certifierat licensierat laboratorium under överinseende av en patolog som ansvarar för att granska de färgade objektglasen och säkerställa att kontrollerna är tillräckliga.
- VENTANA-reagenser tillhandahålls med optimal utspädning för användning när de medföljande instruktionerna följs. Avvikelser från rekommenderade testförfaranden kan ogiltigförklara förväntade resultat. Användarna måste ta ansvar för tolkningen av patientresultaten när de avviker från de rekommenderade testprocedurerna.
- På grund av variationer i provbearbetningen kan det vara nödvändigt att antingen öka eller minska ISH-proteasbehandlings tiden eller använda ett annat ISH-proteas på enskilda prover. Sådana ändringar måste valideras av användaren. Användare som avviker från rekommenderade testförfaranden är ansvariga för tolkningen av patientresultat under dessa omständigheter.
- Reagenser kan visa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Risken för oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte elimineras fullständigt på grund av biologisk variation av vävnader. Kontakta din lokala supportrepresentant om det förekommer dokumenterade oväntade reaktioner.

Specifika begränsningar

- Vid användning av fluorescein-märkta prover och VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit kan cytoplasmisk och/eller nukleär färgning i epitelceller av gastrointestinal vävnad observeras. Användning av Negative Control Probe krävs för att detektera denna färgning.
- Alla analyser kanske inte registreras på varje instrument. Kontakta din lokala supportrepresentant för mer information.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

Prestandan hos Alu Positive Control Probe utvärderades genom studier för sensitivitet, specificitet och precision. Följande prestandaegenskaper påvisades:

- Sensitivitet och specificitet för Alu Positive Control Probe-färgning över ett intervall av olika normala och neoplastiska vävnadstyper. Alu-upprepad DNA-sekvenser upptäcktes i cellernas kärna och cytoplasma i majoriteten av vävnadstyperna och tumörerna, med en brist på betydelsebakgrund eller korsreaktivitet.
- Specificitet för Alu Positive Control Probe genom närvaron av tecken på normal (obehandlad) human mjältvävnad och frånvaron av tecken på DNase1-behandlad human mjältvävnad.
- Precision mellan olika loter för proben.
- Precision inom körningen och mellan dagar på ett BenchMark ULTRA-instrument.
- Instrumentprecision mellan ett BenchMark GX-, BenchMark XT- och BenchMark ULTRA-instrument.
- Plattformsprecision mellan BenchMark GX-, BenchMark XT- och BenchMark ULTRA-instrument.

Samtliga studier uppfyllde sina acceptanskriterier.

Precision på BenchMark ULTRA PLUS-instrument visades med hjälp av representativa analyser. Studier inkluderade repeterbarhet inom körning, mellan dag och mellanliggande precision mellan körning. Samtliga studier uppfyllde sina acceptanskriterier.

FELSÖKNING

Tab. 4. Felsökningslösningar.

Problem	Lösning
Positiv kontroll är negativ.	Kontrollera att objektglaset har rätt streckkodsetikett.
Positiv kontroll är negativ eller uppvisar svagare färgning än förväntat.	Kontrollera andra positiva kontroller som färgats under samma färgningskörning för att fastställa om felet beror på kontrollobjektglaset eller de reagenser som använts. Positiva kontrollprover rekommenderas för potentiell felsökning för varje körning.

Problem	Lösning
Vävnaden spolats av objektglasen.	Kontrollera att positivt laddade objektglas används.
Snitt tjockare än 4 µm uppvisar nukleärbubblor på grund av för mycket paraffin.	Välj alternativet "Utökad avparaffinering" i färgningsproceduren.

REFERENSER

1. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
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 24 June 2020 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.

OBS! En punkt används i detta dokument alltid som decimalavskiljare för att markera gränsen mellan integralen och bråkdelarna i ett decimaltal. Tusentalsavgränsare används inte.

Symboler

Ventana använder följande symboler och tecken utöver de som anges i standarden ISO 15223-1 (för USA: se elabdoc.roche.com/symbols för ytterligare information).



GS1-artikelnummer

Rx only

För USA: Var försiktig: Federal lag begränsar denna enhet till försäljning av eller på ordination av läkare.

REVISIONSHISTORIK

Rev	Uppdateringar
G	Uppdateringar av avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder. Uppdaterade till den aktuella mallen.

IMMATERIALRÄTT

VENTANA, BENCHMARK och INFORM är varumärken som tillhör Roche. Alla andra produktnamn och varumärken tillhör sina respektive ägare.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

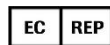
For USA: Rx only

KONTAKTUPPGIFTER



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, AZ 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



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

