

Light Green for PAS

REF 860-010

05279267001

IVD  75

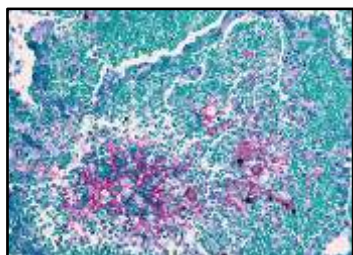


Fig. 1. Light Green for PAS färgning av svamporganismer i lungvävnad.

användning vid in vitro-diagnostik (IVD).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Light Green for PAS är en engångsflaska med kontrastfärg som används i kombination med PAS Staining Kit. PAS Staining Kit är en modifiering av en teknik som ursprungligen beskrevs av McManus 1946 för att visualisera muciner, glykogen, källarmembran och svamporganismer genom kombinationen av oxidation av polysackarider genom periodisk syra och färgning med Schiff-reagens. ¹

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

PAS Staining Kit använder Periodic Acid reagens för att oxidera glykoler till aldehyder. Schiff-reagensen bildar en färglös dialdehydförening som omvandlas till magenta färgning av glykolinnehållande cellulära komponenter. ² Light Green for PAS-reagens används istället för eller tillsammans med Hematoxylin som medföljer PAS Staining Kit. Light Green for PAS fläckar bakgrunden ljusgrön medan PAS Staining Kit fläckar svampvävnadselementen magenta.

Detta kit är optimerat för att användas på BenchMark Special Stains-instrument. Reagenserna appliceras på vävnad på objektglas för mikroskop och blandas över hela provet.

MEDFÖLJANDE MATERIAL

Reagensflaskorna levereras i streckkodsmärkta bärare som sätts in i reagensbrickan på instrumentet. Varje kit innehåller tillräckligt med reagens för 75 tester:

En 15 mL flask med Light Green for PAS innehåller ca 1 % Light Green SF gulaktig i en 1 % ättiksyralösning.

En flaskinsats med aspireringsrör.

Rekonstituering, blandning, spädning, titrering

Ingen rekonstituering, blandning, spädning eller titrering av kitreagenser behövs. Ytterligare spädning av någon av reagenserna kan leda till otillfredsställande färgningskvalitet.

Reagenserna i detta kit har späts ut optimalt för användning på BenchMark Special Stains-instrument.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

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:

1. Rekommenderad kontrollvävnad
2. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
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. Laboratorieutrustning för allmänt bruk

FÖRVARING OCH STABILITET

Light Green for PAS bör förvaras vid 15–30 °C.

Vid korrekt förvaring, öppnade och oöppnade reagenser stabila fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte reagenset efter detta utgångsdatum.

Det finns inga uppenbara tecken som indikerar instabilitet hos dessa reagenser. Därför bör kontroller köras samtidigt med okända prover. Kontakta din lokala supportrepresentant om positivt kontrollmaterial visar på minskad färgning eftersom det kan indikera reagensinstabilitet.

PROVBEREDNING

Vid rutinmässig bearbetning behövs formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) vävnader för användning med denna analys och BenchMark Special Stains. Det rekommenderade vävnadsfixeringsmedlet är 10 % neutralbuffrad formalin. ²

Samla in prover och förvara dem enligt CLSI-dokument M29-T2. ³ Skär snitt i lämplig tjocklek, ca 4 µm och placera snitten på positivt laddade objektglas.

1. Torka objektglaset. ²
2. Skriv ut lämplig(a) streckkodsetikett(er).
3. Sätt streckkodsetiketter på den frostade änden av objektglaset innan du laddar dem på instrumentet (se instrumentets användarhandbok för korrekt applicering av etiketter).

Se avsnittet Bruksanvisning i det rekommenderade protokollet för BenchMark Special Stains-instrumentet.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För användning vid in vitro-diagnostik (IVD).
2. Endast för yrkesmässigt bruk.
3. **FÖRSIKTIGHET:** Enligt federal lag i USA får enheten endast säljas av läkare, eller enligt läkares ordination. (Rx Only)
4. Använd inte fler gånger än det angivna antalet tester.
5. Positivt laddade objektglas kan vara känsliga för miljöpåverkan vilket kan leda till felaktig färgning. Be din servicerepresentant från Roche om mer information om hur denna typ av objektglas ska användas.
6. Material av humant eller animaliskt ursprung ska hanteras som biologiskt farligt avfall och omhändertas i enlighet med tillämpliga försiktighetsåtgärder. Vid exponering ska de ansvariga myndigheternas hälsodirektiv följas. ^{4,5}
7. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon och slemhinnor. Om reagenser kommer i kontakt med känsliga områden ska dessa sköljas med stora mängder vatten.
8. Undvik mikrobiell kontaminering av reagenser eftersom det kan orsaka felaktiga resultat.
9. Kontakta lokala och/eller statliga myndigheter angående rekommenderad metod för avfallshantering.
10. Ytterligare information om hur denna produkt används finns i användarhandboken för BenchMark Special Stains-instrumentet och bruksanvisningarna för alla nödvändiga komponenter på dialog.roche.com.
11. Produktsäkerhetsmärkningsen följer främst EU:s GHS-vägledning. Säkerhetsdatablad finns tillgängligt för professionella användare på begäran.
12. För att rapportera misstänkta allvarliga 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.

BRUKSANVISNING

Förbereda reagensrör

Före första användningen måste en flaskinsats och ett aspireringsrör placeras i reagensflaskan.

Ta loss transportlocket från flaskan och placera insatsen och aspireringsröret i flaskan. Insatsen och aspireringsröret ska lämnas kvar i flaskan när flaskan har öppnats.

Färgningsprocedur

1. Ladda reagenser och objektglas på instrumentet.

- Sätt det mjuka locket i skåran på reagenshållaren när reagenset används.
- Utför färgningskörningen enligt det rekommenderade protokollet i Tab. 1 och anvisningarna i användarhandboken.
- Avlägsna objektglasen från instrumentet när körningen är slutförd.
- Sätt det mjuka locket på reagensflaskan när reagenset inte används.
- Förvara reagenserna enligt rekommenderade förvaringsförhållanden efter användning.

Rekommenderat protokoll

Parametrarna för de automatiserade procedurerna kan visas, skrivas ut och redigeras i enlighet med metoden i instrumentets användarhandbok.

Följande procedurer ger flexibilitet som passar användarens önskemål. Denna produkt har optimerats för användning tillsammans med BenchMark Special Stains-instrument, men användaren måste validera resultat som erhållits med denna produkt.

Tab. 1. Rekommenderat färgningsprotokoll för Light Green for PAS på ett BenchMark Special Stains-instrument.

Färgningsprocedur	S PAS
Protokollsteg	Metod
Avparaffinering	Välj för att automatisera borttagning av paraffin.
Bakning (valfritt)	Standardvärdet har inte valts. 75 °C i 4 minuter rekommenderas.
Light Green	Standardvärdet har inte valts. Markera för att aktivera Light Green och alternativ för Light Green.
Diastase for PAS Light Green* (valfritt)	Ej valt. Detta alternativ måste valideras av användaren.
Optimize Schiff's for PAS (PAS Schiff's)	Standardvärdet är 45 °C i 20 minuter. Välj för att möjliggöra justering av färgningsintensiteten:** Välj en temperatur mellan 37–60 °C: 37 °C, ljusare Schiff-färgningsintensitet 60 °C, mörkare Schiff-färgningsintensitet Välj en inkubationstid från 12 till 20 minuter: 12 minuter, ljusare Schiff-färgningsintensitet 20 minuter, mörkare Schiff-färgningsintensitet
Hematoxylin for Light Green (valfritt)	Standardvärdet har inte valts. Välj för att aktivera applicering av Hematoxylin-nukleär fläck (rekommenderas).

* Ytterligare proceduralalternativ tillgängligt för produkter som kan användas tillsammans med PAS Staining Kit och Light Green for PAS.

** För att justera färgningspreferenser ska färgningstemperatur och inkubationstid ökas gradvis, en parameter i taget.

Rekommenderad efterbehandling av instrument

- Skölj objektglasen i två omgångar 95 % etanol för att avlägsna resterande lösning, följt av 3 omgångar 100 % etanol.
- Dehydrera objektglasen i tre omgångar 100 % xylene.
- Täckglas med permanenta monteringsmedia.

Kompatibel med VENTANA HE 600-systemets täckningsprotokoll. Ytterligare anvisningar finns i VENTANA HE 600-systemets användarhandbok.

PROCEDUR FÖR KVALITETSKONTROLL

Exempel på ett positivt kontrollmaterial är human FFPE-vävnad kända för att vara positiva för svamporganismer. Kontrollvävnad bör utgöras av färsk obduktions-, biopsi- eller kirurgiska prover, vilka preparerats eller fixerats så tidigt som möjligt på ett sätt som är identiskt med behandlingen av testsnitt. Sådana vävnader bör utgöra kontroll för alla steg i analysen, från vävnadsberedning till färgning.

Användning av ett vävnadssnitt som är fixerat eller bearbetat på ett annat sätt än testprovet utgör kontroll för alla reagens- och metodsteg utom fixering och vävnadsbearbetning. De cellulära komponenterna i andra vävnadselement kan fungera som negativ kontroll.

Optimal laboratoriepraxis använder ett positivt kontrollsnitt på samma objektglas som testvävnad. Detta bidrar till att identifiera eventuella fel som gäller för reagenserna i objektglaset. Kontrollvävnad kan innehålla både positiva och negativa färgningselement och fungera som både positiv och negativ kontroll.

Kontrollvävnaden måste testas vid varje körning.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att kontrollera korrekt prestanda för bearbetade vävnader och testreagenser, inte som hjälpmedel vid fastställande av en specifik diagnos för testprov.

Om de positiva vävnadskomponenterna inte uppvisar positiv färgning, bör testprovernas resultat anses ogiltiga. Om de negativa vävnadskomponenterna uppvisar positiv färgning, bör resultat med patientprover också anses ogiltiga.

Oförklarliga avvikelser i kontrollresultaten bör omedelbart rapporteras till din lokala supportrepresentant. Om kvalitetskontrollresultaten inte uppfyller specifikationerna är patientresultaten ogiltiga. Orsaken måste identifieras och åtgärdas och patientproverna upprepas.

TOLKNING AV FÄRGNINGRESULTAT / FÖRVÄNTADE RESULTAT

Light Green for PAS som används i kombination med PAS Staining Kit är testad för att ge en kontrasterande bakgrund till hjälp vid demonstration av svamporganismer.

- Svamporganismer: magenta
- Kärnor: blågrön
- Bakgrund: ljusgrön

SPECIFIKA BEGRÄNSNINGAR

Endast positivt laddade objektglas för mikroskop har använts och validerats för den här analysen.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

Färgningstester för sensitivitet, specificitet och precision utfördes och resultaten sammanfattas nedan.

Sensitivitet och specificitet

Analytisk sensitivitet och specificitet för normal och sjuk vävnad utvärderades. Alla utvärderade vävnadsfall (69/69) har godkänts för godtagbar färgning enligt tabell 2 och tabell 3.

Tab. 2. Sensitivitet/specificitet för Light Green for PAS fastställdes genom att testa följande normala FFPE-vävnader.

Vävnad	Antal godkända/antal testade
Lunga	1/1
Hud	4/4

Tab. 3. Sensitivitet/specificitet för Light Green for PAS fastställdes genom att testa följande sjuka FFPE-vävnader.

Vävnad	Antal godkända/antal testade
Candida (olika vävnadstyper)	8/8
Aspergillus (olika vävnadstyper)	43/43
Blastomyces (olika vävnadstyper)	3/3
Mucormycosis (olika vävnadstyper)	5/5
Coccidioidomykos (lunga)	2/2
Histoplasmos (olika vävnadstyper)	3/3

Precision

Precisionen för Light Green for PAS fastställdes mellan olika körningar, dagar, instrument och reagenssatser med hjälp av flera skurna snitt från tre mögelsvampsangripna fall av lungvävnad och tre fall av candidaangripna matstrupsvävnader. Alla acceptanskriterier var helt uppfyllda. Precisionsobjektglasstudier genomfördes för Light Green for PAS enligt tabell 4.

Tab. 4. Precisionsobjektglasstudier för Light Green for PAS.

Testade parametrar	Antal villkor	Antal/ Antal testade
Mellan körningar	3 körningar, samma dag	54/54
Mellan dagar	5 dagar	90/90
Mellan instrument	3 instrument	54/54
Inom körning	samma dag, samma instrument	54/54
Lot-till-lot	3 loter	54/54

Resultaten visade ingen betydande skillnad i färgningsintensitet mellan objektglasen.

FELSÖKNING

1. Snittjockleken kan påverka färgningens kvalitet och intensitet. Kontakta din lokala supportrepresentant för att få hjälp om färgningen är olämplig.
2. Nekrotisk eller autolyserad vävnad kan uppvisa icke-specifik färgning.
3. Om den positiva kontrollen är negativ kan vävnaden ha samlats in, fixerats eller avparaffinerats på fel sätt. Följ korrekt procedur för insamling, förvaring och fixering.
4. Om den positiva kontrollen är negativ ska du kontrollera att objektglaset har rätt streckkodsetikett. Om objektglaset är korrekt märkt ska du kontrollera de andra positiva kontrollerna från samma körning för att fastställa om kontrollerna har färgats korrekt.
5. Om kraftig bakgrunds-färgning inträffar: ofullständig paraffinborttagning kan orsaka färgningsartefakter eller ingen färgning. Om allt paraffin inte har tagits bort från objektglaset ska du upprepa färgningskörningen med alternativet förlängd avparaffinering, om tillgängligt.
6. Om vävnadssnitt sköljs av objektglaset ska du kontrollera att objektglasen är positivt laddade.
7. Längre förvaring av objektglasen på instrumentet efter avslutad körning kan påverka färgningens kvalitet och intensitet. Vid felaktig färgning ska du omedelbart ta bort objektglasen i slutet av körningen och gå vidare till postinstrumental efterbehandling.
8. Mer information om korrigerande åtgärder hittar du i avsnittet Bruksanvisning i instrumentets användarhandbok eller genom att kontakta din lokala supportrepresentant.

REFERENSER

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.

OBS! En punkt används i detta dokument alltid som decimalavskiljare för att markera gränsen mellan heltalet 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 dialog.roche.com för definition av använda symboler):



Globalt artikelnummer



Unik enhetsidentifiering



Anger den enhet som importerar den medicintekniska produkten till Europeiska unionen

IMMATERIELL EGENDOM

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE och VENTANA är varumärken som tillhör Roche. Alla övriga varumärken tillhör sina respektive ägare.

Tillägg, raderingar eller ändringar indikeras av ett ändringsfält i marginalen.

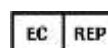
© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTUPPGIFTER



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

