

Instructions for Use

Silver Stain (Modified GMS)

Procedure No. HT100



Intended Use

The Silver Stain modified GMS kit is intended for use in the histologic demonstration of fungi, basement membrane and some opportunistic organisms. The Silver Stain kit is for "In Vitro Diagnostic Use." For professional use only. The data obtained from this manual, qualitative procedure identifies fungi, basement membrane and some opportunistic organisms in tissue samples of human specimens. This data when reviewed in conjunction with other diagnostic tests and information may be used as an aid to diagnosis of fungal infections.

Silver methenamine-borate procedures are well documented.^{1,2} Generally, these require elaborate solution preparation prior to test performance. Solution stability is limited and results vary remarkably due to the capricious nature of metal impregnation and photographic development.

The Silver Stain Kit incorporates a stable working silver methenamine salt along with buffer, toning reagent, and developer. This provides the laboratory a unique package for visualizing fungi, basement membrane and opportunistic organisms such as *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ Included is an application for rapid staining using a microwave oven.³⁻⁶

In brief, microbial cell wall and basement membrane polysaccharides are oxidized to aldehydes by treatment with periodic acid. The aldehyde group, at alkaline pH, reduces silver ion to metallic silver. Rinsing with gold salts forms a more stable gold complex and excess silver is removed by a thiosulfate wash.

Reagents

Periodic Acid Solution (Cat. No. HT1001-100ML)

Periodic acid, 1 g/dL, in deionized water

Borax Solution (Cat. No. HT1002-100ML)

Borax, 5 g/dL, in deionized water. Danger. Causes severe skin burns and eye damage. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

Silver Methenamine Reagent (Cat. No. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Silver methenamine, 110 mg/vial. Danger. Harmful if swallowed. Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled. Suspected of causing cancer.

Gold Chloride Solution (Cat. No. HT1004-100ML)

Gold chloride, 200 mg/dL, in deionized water.

Sodium Thiosulfate Solution (Cat. No. HT1005-100ML)

Sodium thiosulfate, 2 g/dL, in deionized water.

Special Materials Required but Not Provided

- Plastic forceps or paraffin coated metal forceps.
- Positive control slides, such as Fungi TISSUE-TROL™ (Cat. No. TTR004) should be included in each run.

Counterstains (optional)

(choice depends on specimen and individual preferences)

- Tartrazine solution, Cat. No. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris Hematoxylin Solution, Cat. No. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, Cat. No. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin Y Solution, Aqueous, Cat. No. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, With Phloxine, Cat. No. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

For Standard Procedure Only:

- Water bath, 62°C

For Microwave Procedure Only:

- Plastic Coplin jars with lids
- Microwave Oven

Storage and Stability

Store Periodic Acid Solution, Working Silver Methenamine Reagent, Gold Chloride Solution, and Sodium Thiosulfate Solution refrigerated (2–8°C).

Store Borax Solution at room temperature (18–26°C). NOTE: Borax may form precipitate during refrigeration. Bring to room temperature and redissolve prior to use.

Reagent labels bear expiration date.

Preparation

Prepare Working Silver Methenamine Solution by combining 8 mL Borax Solution, 100 mL deionized water and contents of one Silver Methenamine Reagent vial. Mix until dissolved. Use once, then discard.

NOTE: Do not allow Working Silver Methenamine Solution to come into contact with metals.

NOTE: To increase tests per vial to two, Silver Methenamine may be dissolved in 100 mL of deionized water and stored tightly capped. This solution is stable when refrigerated (2–8°C) for 1 month. When ready to use, take 50 mL of one Silver Methenamine Solution and add 4 mL of Borax Solution. Return unused portion of Silver Methenamine Solution to refrigerator. Prewarm all reagents to room temperature before use.

Precautions

The IVDs included in this kit are intended for in vitro diagnostic use in a clinical laboratory environment. These IVDs are for professional use by qualified personnel only. Sigma-Aldrich IVDs may be operated by laboratory personnel who are trained to handle human specimens that can be infectious, use microscopes and other laboratory equipment and have color perception and visual acuity to distinguish colors and other objects under a microscope.

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations.

Fungi TISSUE-TROL™ control slides are paraffin embedded animal tissue containing fungi and should be considered potentially infectious.

Procedure

Specimen Collection

No known test method can offer complete assurance that blood samples or tissue will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives or tissue specimens should be considered potentially infectious.

Fungus and Opportunistic Organisms such as *P. carinii*

Fix in 10% neutral buffered formalin or Bouin's Solution, embed in paraffin and cut 5 micron sections.¹

Basement Membrane

Fix in 10% neutral buffered formalin, Bouin's or Zenker's Solution and cut paraffin sections 1–4 microns.¹

Notes

Staining dishes should be washed in Dishbrite liquid laboratory glassware cleaning concentrate, Cat. No. S4107, then bleach solution, rinsed well in tap water and then in at least 6 changes of deionized water.

If a microwave oven is used, please see the Owner's Manual for instructions.

Standard Procedure

1. Prepare Working Silver Methenamine Solution as described in "Preparation" section and place in 62°C water bath.
2. Deparaffinize tissue sections and rehydrate to deionized water.
3. Place rehydrated sections in Periodic Acid Solution for **5 minutes** for fungi and opportunistic organisms or **11 minutes** for basement membrane.
4. Remove slides and rinse in 6 changes of deionized water.
5. **For Demonstration of Fungi and Opportunistic Organisms**, place slides in prewarmed Working Silver Methenamine Solution. Examine microscopically after 20 minutes. Fungi and opportunistic organisms should be dark brown against a pale yellow background. **For Demonstration of Basement Membrane**, place slides in prewarmed Working Silver Methenamine Solution. Examine microscopically after 30 minutes. Basement membrane should be black against a dark yellow-brown background. **NOTE:** While incubating sections at 62°C, place a Coplin jar containing deionized water in 62°C water bath. Use this water for rinsing prior to evaluation in Step 5. Examine sections microscopically for adequate staining at stated intervals. Return slides to warm Working Silver Methenamine Solution until desired intensity is achieved.
6. Remove slides from Working Silver Methenamine Solution after adequate structural staining is achieved and rinse 6 times in room temperature deionized water.
7. Tone sections in Gold Chloride Solution for **30 seconds**.
8. Rinse in room temperature deionized water 6 times.
9. Place sections in Sodium Thiosulfate Solution for **2 minutes**.
10. Wash well in running tap water.
11. Counterstain according to personal preference with Tartrazine solution, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harris Hematoxylin Solution or Eosin Y Solution.
12. Dehydrate in alcohol, clear in xylene, mount and examine microscopically.

Microwave Procedure

1. Deparaffinize slides and hydrate to deionized water.
2. Place slides in **40 mL** of Periodic Acid Solution contained in a plastic Coplin jar. Loosely cover Coplin jar with lid before placing in microwave oven, or use Coplin jars with holes drilled into the lids. Microwave on **800 watts** for **10 seconds**. ***Periodic Acid Solution may be reused if used at room temperature for **5 minutes** instead of microwaving. ***For basement membranes Periodic Acid Solution Incubation time is **11 minutes at room temperature**.
3. Remove slides from Periodic Acid Solution and rinse in 6 changes of deionized water.
4. Place slides in **40 mL** of Working Silver Methenamine Solution contained in a plastic Coplin jar.
5. **For Fungal Organisms** microwave on **600 watts** for **35 seconds**. Gently mix solution with a beral pipette or applicator stick. Let incubate for **2–3 minutes**. After no longer than **2 to 3 minutes**, place slides in warm deionized water and check development microscopically. If organisms are not sufficiently developed, return slides to Working Silver Methenamine Solution and let sit for **30 seconds to 1 minute** or until desired tone is achieved. **NOTE:** Suggested developing times for the following fungal organisms are as follows:

Blastomyces	2 minutes
<i>Pneumocystis</i>	2–3 minutes
<i>Aspergillus</i>	2–3 minutes

For Basement Membrane microwave on **600 watts** for **35 seconds**. Gently agitate solution. Let slides incubate for **5 minutes**. Microwave a second time at **600 watts** for **10 seconds**. Let slides develop for **2 minutes**. Check slides microscopically. If slides are not sufficiently developed, repeat last step until desired tone is achieved.

6. Rinse slides in 6 changes of deionized water.
7. Tone slides in Gold Chloride Solution for **30 seconds at room temperature**.
8. Rinse slides in 6 changes of deionized water.
9. Place slides in Sodium Thiosulfate Solution for **2 minutes at room temperature**.
10. Wash well in running tap water.
11. Counterstain according to personal preference with Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Tartrazine Solution, or Hematoxylin Solution, or Eosin Y Solution.
12. Dehydrate in alcohol, clear in xylene, mount and examine microscopically.

Performance Characteristics

Target Structure	Staining Result
Fungi	Purplish-brown to black
<i>P. carinii</i>	Purplish-brown to black
Basement Membrane	Black
Background	Dependent upon counterstain

If observed results vary from expected results, please contact Sigma-Aldrich Technical Service for assistance.

Analytical Performance Characteristics

The analytical performance results for the given tests conducted on all target structures, confirm 100% sensitivity, specificity, and repeatability.

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
HT1001	Periodic Acid Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1002	Borax Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1003	Silver Methenamine	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1004	Gold Chloride Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1005	Sodium Thiosulfate Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

Refer to Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard or safety information.

HT100A:



- H271: May cause fire or explosion; strong oxidizer.
- H302: Harmful if swallowed.
- H314: Causes severe skin burns and eye damage.
- H317: May cause an allergic skin reaction.
- H334 May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.
- H351: Suspected of causing cancer.
- 360FD: May damage fertility. May damage the unborn child.
- H373: May cause damage to organs (Thyroid) through prolonged or repeated exposure if swallowed.
- H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.
- P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
- P273: Avoid release to the environment.
- P280: Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P303 + P361 + P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P304 + P340 + P310: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

	Manufacturer		Catalogue Number
	Consult Instructions for Use		Batch Code
	Authorized Representative in the European Community/ European Union		European Union Declaration of Conformity (defined in IVDR 2017/746)
	Use-by Date		In vitro diagnostic medical device
	Temperature Limit		Caution
	Date of Manufacture		Importer

References

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980

2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981

3. Churkian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986

4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986

5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983

6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986

7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990

8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Contact Information

To place an order, please visit our web site at [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revision History

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Moved aid to diagnosis statement to intended use. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Added Warnings and Hazards section.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Anweisungen für den Gebrauch

Silberfärbung (modifiziertes GMS)

Verfahren Nr. HT100



Verwendungszweck

Das modifizierte GMS-Silberfärbungs-Kit ist für den histologischen Nachweis von Pilzen, Basalmembranen und einigen opportunistischen Organismen bestimmt. Das Silberfärbungs-Kit ist für die „In-vitro-Diagnostik“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die mit diesem manuellen, qualitativen Verfahren gewonnenen Daten dienen der Identifizierung von Pilzen, Basalmembranen und einigen opportunistischen Organismen in Gewebeproben von menschlichen Proben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen als Hilfsmittel für die Diagnose von Pilzinfektionen verwendet werden.

Silbermethenamin-Borat-Verfahren sind gut dokumentiert.^{1,2} Im Allgemeinen erfordern diese Verfahren eine aufwendige Lösungsvorbereitung vor der Testdurchführung. Die Stabilität der Lösung ist begrenzt und die Ergebnisse schwanken aufgrund des unbeständigen Verhaltens der Metallimprägnierung und der fotografischen Entwicklung erheblich.

Das Silberfärbungs-Kit enthält ein stabil arbeitendes Silbermethenaminsalz zusammen mit Puffer, Tönungsreagenz und Entwickler. Dies bietet dem Labor ein einzigartiges Paket zur Visualisierung von Pilzen, Basalmembranen und opportunistischen Organismen wie *Pneumocystis carinii*.^{3,5} Enthalten ist eine Anwendung zur schnellen Färbung mit Hilfe eines Mikrowellenofens.^{3,6}

Kurz gesagt, werden mikrobielle Zellwand- und Basalmembranpolysaccharide durch Behandlung mit Periodsäure zu Aldehyden oxidiert. Die Aldehydgruppe reduziert bei alkalischem pH-Wert das Silberion zu metallischem Silber. Beim Spülen mit Goldsalzen bildet sich ein stabilerer Goldkomplex, und überschüssiges Silber wird durch eine Thiosulfatwäsche entfernt.

Reagenzien

Periodsäurelösung (Kat. Nr. HT1001-100ML)
Periodsäure, 1 g/dl, in deionisiertem Wasser.

Borax-Lösung (Kat. Nr. HT1002-100ML)
Borax, 5 g/dl, in entionisiertem Wasser. Gefahr: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden. Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.

Silber-Methenamin-Reagenz (Kat. Nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Silbermethenamin, 110 mg/Flasche. Gefahr: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden. Kann bei Einatmung allergische oder asthmatische Symptome oder Atembeschwerden hervorrufen. Steht im Verdacht, Krebs zu verursachen.

Goldchloridlösung (Kat. Nr. HT1004-100ML)
Goldchlorid, 200 mg/dl, in deionisiertem Wasser.

Natriumthiosulfat-Lösung (Kat. Nr. HT1005-100ML)
Natriumthiosulfat, 2 g/dl, in deionisiertem Wasser.

Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden

- Kunststoffzangen oder paraffinbeschichtete Metallzangen.
- Positive Kontroll-Objektträger, wie z. B. Fungi TISSUE-TROL™ (Kat. Nr. TTR004), sollten in jedem Durchlauf enthalten sein.

Gegenfärbungen (optional)

(die Wahl hängt vom Exemplar und den individuellen Präferenzen ab)

- Tartrazin-Lösung, Kat. Nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris Hämatoxylin-Lösung, Kat. Nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosin-Y-Lösung, alkoholisch, Kat. Nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin-Y-Lösung, wasserhaltig, Kat. Nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin-Y-Lösung, alkoholisch, mit Phloxin, Kat. Nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Hellgrün SF Gelblich

Nur für Standardverfahren:

- Wasserbad, 62 °C

Nur für Mikrowellenverfahren:

- Coplin-Kunststoffgläser mit Deckeln
- Mikrowellenofen

Lagerung und Stabilität

Lagern Sie Periodsäurelösung, Arbeits-Silbermethenaminreagenz, Goldchloridlösung und Natriumthiosulfatlösung gekühlt (2-8 °C).

Lagern Sie die Boraxlösung bei Raumtemperatur (18-26 °C). HINWEIS: Borax kann beim Kühlen einen Niederschlag bilden. Auf Raumtemperatur bringen und vor der Verwendung wieder auflösen.

Die Etiketten der Reagenzien tragen das Verfallsdatum.

Vorbereitung

Bereiten Sie eine Silbermethenamin-Arbeitslösung vor, indem Sie 8 ml Boraxlösung, 100 ml entionisiertes Wasser und den Inhalt einer Silbermethenamin-Reagenzphiole kombinieren. Mischen, bis es aufgelöst ist. Einmal verwenden, dann entsorgen.

HINWEIS: Silbermethenamin-Arbeitslösung darf nicht mit Metallen in Berührung kommen.

HINWEIS: Um die Anzahl der Tests pro Phiole auf zwei zu erhöhen, kann Silbermethenamin in 100 ml deionisiertem Wasser gelöst und dicht verschlossen gelagert werden. Diese Lösung ist gekühlt (2-8 °C) 1 Monat lang haltbar. Wenn Sie bereit sind, die Lösung zu verwenden, nehmen Sie 50 ml einer Silbermethenaminlösung und fügen Sie 4 ml Boraxlösung hinzu. Legen Sie den nicht verwendeten Teil der Silber-Methenamin-Lösung in den Kühlschrank zurück.

Erhitzen Sie die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur.

Vorsichtsmaßnahmen

Die in diesem Kit enthaltenen IVDs sind für die In-vitro-Diagnostik in einer klinischen Laborumgebung bestimmt. Diese IVDs sind nur für den professionellen Gebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Die IVDs von Sigma-Aldrich können von Labormaterialien bedient werden, das im Umgang mit menschlichen Proben, die infektiös sein können, geschult ist, Mikroskope und andere Laborgeräte bedienen kann und über eine Farbwahrnehmung und Sehschärfe verfügt, um Farben und andere Objekte unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Beim Umgang mit Laborreagenzien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Entsorgen Sie den Abfall unter Einhaltung aller örtlichen, staatlichen, regionalen oder nationalen Vorschriften.

Fungi TISSUE-TROL™-Kontroll-Objektträger sind in Paraffin eingebettetes tierisches Gewebe, das Pilze enthält und als potenziell infektiös betrachtet werden sollte.

Verfahren

Probenentnahme

Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass Blutproben oder Gewebe keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate oder Gewebeproben als potenziell infektiös betrachtet werden.

Pilze und opportunistische Organismen wie *P. carinii*

In 10 % neutral gepuffertem Formalin oder Bouin-Lösung fixieren, in Paraffin einbetten und 5 Mikrometer große Schnitte anfertigen.¹

Basalmembran

In 10 % neutral gepuffertem Formalin, Bouin-Lösung oder Zenker-Lösung fixieren und 1-4 Mikrometer große Paraffinschnitte anfertigen.¹

Anmerkungen

Das Färbegeschirr sollte mit dem flüssigen Laborglasreinigungskonzentrat Dishbrite, Kat. Nr. S4107, dann mit Bleichlösung, gut mit Leitungswasser und anschließend mit mindestens sechsmaligem Wechsel von entionisiertem Wasser gespült werden.

Wenn Sie einen Mikrowellenofen verwenden, lesen Sie bitte die Anweisungen in der Bedienungsanleitung.

Standardverfahren

1. Bereiten Sie die Silbermethenamin-Arbeitslösung wie im Abschnitt „Vorbereitung“ beschrieben vor und stellen Sie sie in ein 62 °C warmes Wasserbad.
2. Entparaffinieren und hydratisieren Sie die Gewebeabschnitte in deionisiertem Wasser.
3. Legen Sie rehydrierte Schnitte für **5 Minuten** in Periodsäurelösung für Pilze und opportunistische Organismen oder **11 Minuten** für eine Basalmembran.
4. Nehmen Sie die Objektträger heraus und spülen Sie sie in 6-maligem Wechsel mit deionisiertem Wasser.
5. **Für Nachweis von Pilzen und opportunistischen Organismen**, Objektträger in vorgewärmte Silbermethenaminlösung einlegen. Nach 20 Minuten mikroskopisch untersuchen. Pilze und opportunistische Organismen sollten dunkelbraun vor einem hellgelben Hintergrund sein.
Für den Nachweis von Basalmembranen, Objektträger in vorgewärmte Silbermethenaminlösung einlegen. Nach 30 Minuten mikroskopisch untersuchen. Die Basalmembran sollte schwarz auf einem dunkelgelb-braunen Hintergrund sein.
HINWEIS: Während der Inkubation der Schnitte bei 62 °C stellen Sie einen Coplin-Färbetrog mit entionisiertem Wasser in das 62 °C warme Wasserbad. Verwenden Sie dieses Wasser zum Spülen vor der Auswertung in Schritt 5. Untersuchen Sie die Schnitte in den angegebenen Abständen mikroskopisch auf ausreichende Färbung. Legen Sie die Objektträger wieder in die warme Arbeits-Silbermethenaminlösung, bis die gewünschte Intensität erreicht ist.
6. Die Objektträger nach Erreichen einer ausreichenden Strukturfärbung aus der Silber-Methenamin-Lösung nehmen und 6 Mal mit entionisiertem Wasser bei Raumtemperatur spülen.
7. Färben Sie die Abschnitte in Goldchloridlösung für **30 Sekunden**.
8. 6 Mal in entionisiertem Wasser bei Raumtemperatur spülen.
9. Legen Sie die Schnitte für **2 Minuten** in Natriumthiosulfatlösung.
10. Unter fließendem Leitungswasser gut abspülen.
11. Gegenfärbung je nach persönlicher Präferenz mit Tartrazinlösung, Fast Green FCF, Hellgrün SF Gelblich, Harris Hämatoxylin-Lösung oder Eosin-Y-Lösung.
12. In Alkohol dehydrieren, in Xylol klären, einbetten und mikroskopisch untersuchen.

Mikrowellenverfahren

1. Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
2. Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Periodsäurelösung, die sich in einem Coplin-Färbetrog aus Kunststoff befindet. Coplin-Farbtröge vor dem Einsetzen in den Mikrowellenofen locker mit einem Deckel bedecken oder Coplin-Farbtröge mit gebohlenen Deckeln verwenden. In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen. ***Periodsäurelösung kann wiederverwendet werden, wenn sie bei Raumtemperatur für **5 Minuten** anstatt in der Mikrowelle verwendet wird. ***Für Basalmembranen beträgt die Inkubationszeit der Periodsäurelösung **11 Minuten bei Raumtemperatur**.
3. Nehmen Sie die Objektträger aus der periodischen Säurelösung und spülen Sie sie in 6-maligem Wechsel mit deionisiertem Wasser.
4. Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Silber-Methenaminlösung, die sich in einem Coplin-Färbetrog aus Kunststoff befindet.
5. **Für Pilzorganismen:** In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **35 Sekunden** erhitzen. Mischen Sie die Lösung vorsichtig mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstab. **2-3 Minuten** inkubieren lassen. Nach höchstens **2 bis 3 Minuten** die Objektträger in warmes entionisiertes Wasser legen und die Entwicklung mikroskopisch überprüfen. Wenn die Organismen nicht ausreichend entwickelt sind, legen Sie die Objektträger wieder in die Silbermethenamin-Arbeitslösung und lassen Sie sie **30 Sekunden** bis **1 Minute** oder bis der gewünschte Farbton erreicht ist, in der Lösung liegen.

HINWEIS: Die empfohlenen Entwicklungszeiten für die folgenden Pilzorganismen sind wie folgt

Blastomyces	2 Minuten
Pneumocystis	2-3 Minuten
Aspergillus	2-3 Minuten

Für die Basalmembran in der Mikrowelle bei **600 Watt** für **35 Sekunden** erhitzen. Die Lösung sanft umrühren. Objektträger **5 Minuten** inkubieren lassen. Ein zweites Mal in der Mikrowelle bei **600 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen. Lassen Sie die Objektträger für **2 Minuten** entwickeln. Objektträger mikroskopisch prüfen. Wenn die Objektträger nicht ausreichend entwickelt sind, wiederholen Sie den letzten Schritt, bis der gewünschte Farbton erreicht ist.

- 6. Objektträger in 6-maligem Wechsel mit deionisiertem Wasser abspülen.
- 7. Tönen Sie die Abschnitte bei **Raumtemperatur** in Goldchloridlösung für **30 Sekunden**.
- 8. Objektträger in 6-maligem Wechsel mit deionisiertem Wasser abspülen.
- 9. Legen Sie die Objektträger für **2 Minuten** bei **Raumtemperatur** in Natriumthiosulfatlösung.
- 10. Unter fließendem Leitungswasser gut abspülen.
- 11. Gegenfärbung je nach persönlicher Präferenz mit Fast Green FCF, Hellgrün SF Gelblich, Tartrazinlösung oder Hematoxylin-Lösung oder Eosin-Y-Lösung.
- 12. In Alkohol dehydrieren, in Xylol klären, einbetten und mikroskopisch untersuchen.

Leistungsmerkmale

Zielstruktur	Ergebnis der Färbung
Pilze	Purpurbraun bis schwarz
<i>P. carinii</i>	Purpurbraun bis schwarz
Basalmembran	Schwarz
Hintergrund	Abhängig von der Gegenfärbung

Wenn die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von Sigma-Aldrich, um Unterstützung zu erhalten.

Analytische Leistungsmerkmale

Die Ergebnisse der analytischen Leistung für die gegebenen Tests, die für alle Zielstrukturen durchgeführt wurden, bestätigen eine 100%ige Sensitivität, Spezifität und Wiederholbarkeit.

Kat. Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
HT1001	Periodsäure-lösung	Pilzartige Organismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1002	Borax-Lösung	Pilzartige Organismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1003	Silbermethen-amin	Pilzartige Organismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1004	Goldchlorid-Lösung	Pilzartige Organismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1005	Natriumthiosulfat-Lösung	Pilzartige Organismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

Aktuelle Risiko-, Gefahren- und Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt und auf der Produktkennzeichnung.

HT100A:



- H271: Kann Brand oder Explosion verursachen; starkes Oxidationsmittel.
- H302: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
- H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.
- H317: Kann eine allergische Reaktion der Haut verursachen.
- H334 Kann bei Einatmung allergische oder asthmatische Symptome oder Atembeschwerden hervorrufen.
- H351: Steht im Verdacht, Krebs zu verursachen.
- 360FD: Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das ungeborene Kind schädigen.
- H373: Kann bei Verschlucken bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe (Schilddrüse) schädigen.
- H412: Schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
- P210: Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Rauchen verboten.
- P273: Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280: Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P303 + P361 + P353: WENN AUF DER HAUT (oder im Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P310: BEI EINATMUNG: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P305 + P351 + P338: WENN IM AUGE: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.

Wenn während der Verwendung dieses Geräts oder als Folge seiner Verwendung ein schwerwiegender Zwischenfall eingetreten ist, melden Sie dies bitte dem Hersteller und/oder seinem bevollmächtigten Vertreter sowie Ihrer nationalen Behörde.

Symbol-Definitionen

Symbole gemäß der Definition in EN ISO 15223-1:2021

	Hersteller		Katalognummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur

Referenzen

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S: Special stains in microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leiden 1992

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Für den technischen Service besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorie

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Die Aussage über die Hilfe bei der Diagnose wurde in den Verwendungszweck verschoben. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Materialsicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Abschnitt zu zusätzlichen Warnungen und Gefahren.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Mode d'emploi

Coloration argentique (coloration de Gomori-Grocott modifiée)

Procédure n° HT100



MERCK

Utilisation prévue

Le kit de coloration argentique de Gomori-Grocott modifiée est destiné à être utilisé pour la mise en évidence histologique des champignons, des membranes basales ainsi que de certains micro-organismes opportunistes. Le kit de coloration argentique est destiné à un « usage en diagnostic *in vitro* ». À usage professionnel uniquement. Les données obtenues avec cette procédure qualitative manuelle permettent d'identifier les champignons, les membranes basales ainsi que certains micro-organismes opportunistes dans les échantillons de tissus humains. Lorsqu'elles sont examinées en association avec d'autres tests diagnostiques et d'autres informations, ces données peuvent être utilisées comme aide au diagnostic des infections fongiques.

Les procédures à base de méthénamine-argent-borate sont bien documentées.^{1,2} En général, elles nécessitent une préparation élaborée de la solution avant la réalisation du test. La stabilité de la solution est limitée et les résultats varient significativement en raison de la nature capricieuse de l'imprégnation métallique et du développement photographique.

Le kit de coloration argentique comprend un sel de méthénamine argent stable ainsi qu'un tampon, un réactif de virage de couleur et un révélateur. Le laboratoire dispose ainsi d'un seul kit pour visualiser les champignons, les membranes basales ainsi que les micro-organismes opportunistes, comme *Pneumocystis carinii*.^{3,5} Une application pour une coloration rapide utilisant un four à micro-ondes est incluse.^{3,6}

En résumé, les polysaccharides de la paroi cellulaire et de la membrane basale des micro-organismes sont oxydés en aldéhydes par traitement avec de l'acide périodique. Le groupe aldéhyde, à un pH alcalin, réduit les ions argent en métal argent. Le rinçage avec des sels d'or entraîne la formation d'un complexe d'or plus stable et l'excès d'argent est éliminé par un lavage au thiosulfate.

Réactifs

Solution d'acide périodique (réf. HT1001-100ML)

Acide périodique, 1 g/dl, dans de l'eau déionisée.

Solution d'acide borique (réf. HT1002-100ML)

Acide borique, 5 g/dl, dans de l'eau déionisée. Danger. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Porter des gants de protection, des vêtements de protection, des lunettes de protection et un masque de protection.

Réactif à base de méthénamine argent (réf. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Méthénamine argent, 110 mg/flacon. Danger. Nocif en cas d'ingestion. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer des symptômes d'allergie ou d'asthme ou bien des difficultés respiratoires en cas d'inhalation. Susceptible de provoquer le cancer.

Solution de chlorure d'or (réf. HT1004-100ML)

Chlorure d'or, 200 mg/dl, dans de l'eau déionisée.

Solution de thiosulfate de sodium (réf. HT1005-100ML)

Thiosulfate de sodium, 2 g/dl, dans de l'eau déionisée.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Pincettes en plastique ou pincettes en métal recouvertes de paraffine
- Lames de contrôle positives, comme les lames Fungi TISSUE-TROL™ (réf. TTR004), qui doivent être incluses dans chaque série

Contre-colorants (facultatif)

(Le choix dépend de l'échantillon et des préférences individuelles)

- Solution de tartrazine, réf. HT302 [HT3024-120ML ; HT3028-250ML]
- Solution d'hématoxyline de Harris, réf. HHS [HHS16-500ML ; HHS32-1L ; HHS80-2.5L ; HHS128-4L]
- Solution d'éosine Y alcoolique, réf. HT1101 [HT110116-500ML ; HT110132-1L ; HT110180-2.5L ; HT1101128-4L]
- Solution d'éosine Y aqueuse, réf. HT1102 [HT110216-500ML ; HT110232-1L ; HT110280-2.5L ; HT1102128-4L]
- Solution d'éosine Y alcoolique avec phloxine, réf. HT1103 [HT110316-500ML ; HT110332-1L ; HT110380-2.5L ; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF jaunâtre

Pour la procédure standard uniquement :

- Bain-marie, 62 °C

Pour la procédure au micro-ondes uniquement :

- Cuves à coloration de Coplin en plastique avec couvercles
- Four à micro-ondes

Conservation et stabilité

Conserver la solution d'acide périodique, la solution de travail à base du réactif de méthénamine argent, la solution de chlorure d'or et la solution de thiosulfate de sodium au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C).

Conserver la solution d'acide borique à température ambiante (entre 18 et 26 °C). REMARQUE : l'acide borique peut former un précipité pendant la réfrigération. L'équilibrer à température ambiante et redissoudre avant de l'utiliser.

Les étiquettes des réactifs portent une date limite d'utilisation.

Préparation

Préparer la solution de travail de méthénamine argent en combinant 8 ml de solution d'acide borique, 100 ml d'eau déionisée et le contenu d'un flacon de réactif de méthénamine argent. Mélanger jusqu'à dissolution complète. Utiliser la solution de travail une seule fois, puis la jeter.

REMARQUE : ne pas laisser la solution de travail de méthénamine argent entrer en contact avec des métaux.

REMARQUE : pour augmenter le nombre de tests par flacon à deux, dissoudre la méthénamine argent dans 100 ml d'eau déionisée et la conserver hermétiquement fermée. Cette solution est stable pendant 1 mois lorsqu'elle est conservée au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Au moment de l'utilisation, prendre 50 ml de solution de méthénamine argent et y ajouter 4 ml de solution d'acide borique. Remettre ce qu'il reste de la solution de méthénamine argent non utilisée au réfrigérateur. Équilibrer tous les réactifs à température ambiante avant de les utiliser.

Précautions

Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* inclus dans ce kit sont destinés à être utilisés en diagnostic *in vitro* au sein de laboratoires de biologie médicale. Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à un usage professionnel par un personnel qualifié uniquement. Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de Sigma-Aldrich peuvent être utilisés par le personnel de laboratoire formé à la manipulation d'échantillons humains potentiellement infectieux, à l'utilisation de microscopes et d'autres équipements de laboratoire et possédant une perception des couleurs et une acuité visuelle permettant de distinguer les couleurs ainsi que les autres objets au microscope.

Suivre les précautions habituelles lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets en respectant toutes les réglementations locales et nationales.

Les lames de contrôle Fungi TISSUE-TROL™ sont constituées de coupes de tissus animaux inclus en paraffine contenant des champignons et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

Procédure

Prélèvement des échantillons

Aucune méthode de test connue ne peut totalement garantir que les échantillons de sang ou de tissu ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissu doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Champignons et micro-organismes opportunistes tels que *P. carinii*

Fixer dans du formol neutre tamponné à 10 % ou dans du liquide de Bouin, inclure en paraffine, puis réaliser des coupes de 5 microns.¹

Membranes basales

Fixer dans du formol neutre tamponné à 10 %, du liquide de Bouin ou de Zenker, puis réaliser des coupes de 1 à 4 microns.¹

Remarques

Les cuves de coloration doivent être lavées avec du concentré de nettoyage liquide pour verrerie de laboratoire Dishbrite, réf. 54107, puis dans une solution d'eau de Javel, et rincées à l'eau du robinet, puis dans au moins 6 bains d'eau déionisée.

Si un four à micro-ondes est utilisé, consulter le manuel du fabricant pour obtenir des instructions.

Procédure standard

1. Préparer la solution de travail de méthénamine argent comme décrit dans la section « Préparation », puis la mettre dans un bain-marie à 62 °C.
2. Déparaffiner les coupes de tissus et les réhydrater dans de l'eau déionisée.
3. Placer les coupes réhydratées dans la solution d'acide périodique pendant **5 minutes** pour les champignons et les micro-organismes opportunistes ou pendant **11 minutes** pour les membranes basales.
4. Retirer les lames et les rincer dans 6 bains d'eau déionisée.
5. **Pour la mise en évidence des champignons et des micro-organismes opportunistes**, placer les lames dans la solution de travail de méthénamine argent préchauffée. Examiner au microscope au bout de 20 minutes. Les champignons et les micro-organismes opportunistes doivent être marron foncé sur un fond jaune pâle.
Pour la mise en évidence des membranes basales, placer les lames dans la solution de travail de méthénamine argent préchauffée. Examiner au microscope au bout de 30 minutes. Les membranes basales doivent être noires sur un fond jaune brun foncé.
REMARQUE : pendant l'incubation des coupes à 62 °C, placer une cuve à coloration de Coplin contenant de l'eau déionisée dans le bain-marie à 62 °C. Utiliser cette eau pour le rinçage avant l'évaluation à l'étape 5. Examiner les coupes au microscope pour vérifier que la coloration est adéquate aux intervalles indiqués. Remettre les lames dans la solution de travail de méthénamine argent chauffée jusqu'à obtenir l'intensité souhaitée.
6. Retirer les lames de la solution de travail de méthénamine argent une fois la coloration adéquate des structures obtenue, puis les rincer 6 fois dans de l'eau déionisée à température ambiante.
7. Réaliser le virage de couleur des coupes dans la solution de chlorure d'or pendant **30 secondes**.
8. Rincer 6 fois dans de l'eau déionisée à température ambiante.
9. Placer les coupes dans la solution de thiosulfate de sodium pendant **2 minutes**.
10. Bien rincer sous l'eau du robinet.
11. Contre-colorer selon ses préférences personnelles avec la solution de tartrazine, le Fast Green FCF, le Light Green SF jaunâtre, la solution d'hématoxyline de Harris ou une solution d'éosine Y.
12. Déshydrater dans une série de bains d'alcool, éclaircir au xylène, procéder au montage, puis examiner au microscope.

Procédure au micro-ondes

1. Déparaffiner les lames et les réhydrater dans de l'eau déionisée.
2. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'acide périodique. Couvrir la cuve à coloration de Coplin avec un couvercle sans le fermer hermétiquement avant de placer la cuve dans le micro-ondes, ou bien utiliser des cuves à coloration de Coplin dont les couvercles sont pourvus d'orifices. Mettre au micro-ondes sur **800 watts** pendant **10 secondes**. ***La solution d'acide périodique peut être réutilisée si elle est utilisée à température ambiante pendant **5 minutes** au lieu d'être mise au micro-ondes. ***Pour les membranes basales, le temps d'incubation de la solution d'acide périodique est de **11 minutes à température ambiante**.
3. Retirer les lames de la solution d'acide périodique et les rincer dans 6 bains d'eau déionisée.
4. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution de travail de méthénamine argent.

5. **Pour les micro-organismes fongiques**, mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **35 secondes**. Mélanger délicatement la solution à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un bâtonnet. Laisser incubé pendant **2 à 3 minutes**. Au bout de **2 à 3 minutes** maximum, placer les lames dans de l'eau déionisée tiède et vérifier le développement de la coloration au microscope. Si la coloration des micro-organismes ne s'est pas suffisamment développée, remettre les lames dans la solution de travail de méthénamine argent et laisser reposer pendant **30 secondes à 1 minute** ou jusqu'à obtenir la couleur souhaitée.
- REMARQUE : voici les temps de développement suggérés pour les micro-organismes fongiques suivants :

Blastomyces	2 minutes
Pneumocystis	2 à 3 minutes
Aspergillus	2 à 3 minutes

Pour les membranes basales, mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **35 secondes**. Mélanger délicatement la solution. Laisser incubé les lames pendant **5 minutes**. Mettre au micro-ondes une seconde fois sur **600 watts** pendant **10 secondes**. Laisser la coloration des lames se développer pendant **2 minutes**. Vérifier les lames au microscope. Si la coloration des lames ne s'est pas suffisamment développée, répéter la dernière étape jusqu'à obtenir la couleur souhaitée.

6. Rincer les lames dans 6 bains d'eau déionisée.
7. Réaliser le virage de couleur des lames dans la solution de chlorure d'or pendant **30 secondes à température ambiante**.
8. Rincer les lames dans 6 bains d'eau déionisée.
9. Placer les lames dans la solution de thiosulfate de sodium pendant **2 minutes à température ambiante**.
10. Bien rincer sous l'eau du robinet.
11. Contre-colorer selon ses préférences personnelles avec le Fast Green FCF, le Light Green SF jaunâtre, la solution de tartrazine, la solution d'hématoxiline ou une solution d'éosine Y.
12. Déshydrater dans une série de bains d'alcool, éclaircir au xylène, procéder au montage, puis examiner au microscope.

Caractéristiques de performance

Structure cible	Résultat de la coloration
Champignons	Marron violacé à noir
<i>P. carinii</i>	Marron violacé à noir
Membranes basales	Noir
Fond	Dépend de la contre-coloration utilisée

Si les résultats observés diffèrent des résultats attendus, contacter le service technique de Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

Caractéristiques de performance analytique

Les résultats des performances analytiques pour les tests concernés effectués sur toutes les structures cibles confirment une sensibilité, une spécificité et une répétabilité de 100 %.

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
HT1001	Solution d'acide périodique	Micro-organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1002	Solution d'acide borique	Micro-organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1003	Méthénamine argent	Micro-organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1004	Solution de chlorure d'or	Micro-organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1005	Solution de thiosulfate de sodium	Micro-organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

Se reporter à la fiche de données de sécurité et à l'étiquetage du produit pour obtenir des informations mises à jour concernant les risques, les dangers et la sécurité.

HT100A :



- H271 : Peut provoquer un incendie ou une explosion ; comburant puissant.
- H302 : Nocif en cas d'ingestion.
- H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.
- H334 : Peut provoquer des symptômes d'allergie ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.
- H351 : Susceptible de provoquer le cancer.
- 360FD : Peut nuire à la fertilité. Peut nuire au fœtus.
- H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes (thyroïde) à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée par ingestion.
- H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et autres sources inflammables. Ne pas fumer.
- P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.
- P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

- P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.
- P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Si, au cours de l'utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave se produit, le signaler au fabricant et/ou à son représentant agréé ainsi qu'aux autorités nationales compétentes.

Définition des symboles

Symboles tels que définis dans la norme EN ISO 15223-1:2021

	Fabricant		Référence catalogue
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur

Références

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historique des révisions

Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2022
Rév. 6.0	2022

Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Déplacement de la déclaration relative à l'aide au diagnostic vers l'utilisation prévue. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Ajout de la section relative aux avertissements et risques.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Istruzioni per l'uso

Colorazione per argentare (GMS modificata)

Procedura n. HT100



Uso previsto

Il kit GMS modificato per colorazione per argentare è destinato all'uso nella dimostrazione istologica di funghi, membrana basale e alcuni organismi opportunistici. Il kit di colorazione per argentare è previsto per "uso diagnostico in vitro". Solo per uso professionale. I dati ottenuti da questa procedura qualitativa manuale identificano funghi, membrana basale e alcuni organismi opportunistici in campioni di tessuto di campioni umani. Questi dati, se esaminati insieme ad altri esami e informazioni diagnostiche, possono essere utilizzati come aiuto per la diagnosi di infezioni fungine.

Le procedure con metanamina borato per argentare sono ben documentate.^{1,2} In genere, richiedono una preparazione elaborata della soluzione prima di testare le prestazioni. La stabilità della soluzione è limitata e i risultati variano notevolmente a causa della natura capricciosa dell'impregnazione del metallo e dello sviluppo fotografico.

Il kit di colorazione per argentare incorpora un sale di metanamina d'argento stabile e funzionante insieme a tampone, reagente tonificante e sviluppatore. Ciò fornisce al laboratorio un pacchetto unico per la visualizzazione di funghi, membrana basale e organismi opportunistici come *Pneumocystis carinii*.³⁻⁶ È inclusa un'applicazione per la colorazione rapida utilizzando un forno a microonde.³⁻⁶

In breve, i polisaccaridi della parete cellulare microbica e della membrana basale vengono ossidati in aldeidi mediante trattamento con acido periodico. Il gruppo aldeidico, a pH alcalino, riduce lo ione argento in argento metallico. Il risciacquo con sali d'oro forma un complesso dorato più stabile e l'argento in eccesso viene rimosso mediante un lavaggio con tiosolfato.

Reagenti

Soluzione di acido periodico (N. di cat. HT1001-100ML)

Acido periodico, 1 g/dL, in acqua deionizzata.

Soluzione di borace (N. di cat. HT1002-100ML)

Borace, 5 g/dL, in acqua deionizzata. Pericolo. Nocivo se ingerito. Provoca gravi ustioni cutanee e lesioni oculari. Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/protezione per gli occhi/protezione per il viso.

Reagente metanamina d'argento (N. di cat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Metanamina d'argento, 110 mg/fiala. Pericolo. Nocivo se ingerito. Provoca gravi ustioni cutanee e lesioni oculari. Se inalato, può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie. Sospettato di provocare il cancro.

Soluzione di cloruro d'oro (N. di cat. HT1004-100ML)

Cloruro d'oro, 200 mg/dL, in acqua deionizzata.

Soluzione di tiosolfato di sodio (N. di cat. HT1005-100ML)

Tiosolfato di sodio, 2 g/dL, in acqua deionizzata.

Materiali speciali richiesti ma non forniti

- Pinzette in plastica o pinze metalliche rivestite di paraffina.
- I vetrini di controllo positivi, come Fungi TISSUE-TROL™ (N. di cat. TTR004) devono essere inclusi in ogni esecuzione.

Controcoloranti (opzionale)

(la scelta dipende dal campione e dalle preferenze individuali)

- Soluzione di tartrazina, N. di cat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Soluzione di ematosilina di Harris, N. di cat. HHS [HHS16-500 ML; HHS32-1L; HHS80-2,5L; HHS128-4L]
- Eosina Y in soluzione alcolica, N. di cat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2,5L; HT1101128-4L]
- Eosina Y in soluzione acquosa, N. di cat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2,5L; HT1102128-4L]
- Eosina Y in soluzione alcolica con floxina, N. di cat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2,5L; HT1103128-4L]
- Verde fast FCF
- Verde chiaro SF giallastro

Solo per procedura standard:

- Bagno ad acqua, 62 °C

Solo per procedura con forno a microonde:

- Vaschette Coplin in plastica con coperchi
- Forno a microonde

Conservazione e stabilità

Conservare la soluzione di acido periodico, il reagente di lavoro con metanamina d'argento, la soluzione di cloruro d'oro e la soluzione di tiosolfato di sodio in frigorifero (2-8 °C).

Conservare la soluzione di borace a temperatura ambiente (18-26 °C). NOTA: il borace può formare precipitato durante la refrigerazione. Portare a temperatura ambiente e sciogliere nuovamente prima dell'uso.

Le etichette dei reagenti riportano la data di scadenza.

Preparazione

Preparare la soluzione di lavoro di metanamina d'argento combinando 8 mL di soluzione di borace, 100 mL di acqua deionizzata e il contenuto di una fiala di reagente di metanamina d'argento. Mescolare fino a completo scioglimento. Utilizzarla solo una volta, poi gettarla.

NOTA: non permettere che la soluzione di lavoro di metanamina d'argento entri a contatto con i metalli.

NOTA: per aumentare a due i test per fiala, la metanamina d'argento può essere dissolta in 100 mL di acqua deionizzata e conservata ben chiusa. Se refrigerata (2-8 °C), questa soluzione è stabile per 1 mese. Quando pronta per l'uso, prendere 50 mL di una soluzione di metanamina d'argento e aggiungere 4 mL di soluzione di borace. Riporre la parte inutilizzata della soluzione di metanamina d'argento nel frigorifero.

Preriscaldare tutti i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso.

Precauzioni

Gli IVD inclusi in questo kit sono destinati all'uso diagnostico in vitro in un ambiente di laboratorio clinico. Questi IVD sono destinati esclusivamente all'uso professionale da parte di personale qualificato. Gli IVD Sigma-Aldrich possono essere utilizzati da personale di laboratorio formato nella gestione di campioni umani che possono essere infettivi, nell'utilizzo di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio e che hanno la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

È necessario seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative locali, provinciali, regionali o nazionali.

I vetrini di controllo Fungi TISSUE-TROL™ sono tessuti animali inclusi in paraffina contenenti funghi e devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Procedura

Raccolta dei campioni

Nessun metodo di analisi noto può garantire in modo assoluto che i campioni di sangue o tessuti non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati ematici e i campioni di tessuti devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Funghi e organismi opportunistici come *P. carinii*

Fissare in formalina tamponata neutra al 10% o in soluzione di Bouin, incorporare in paraffina e tagliare in sezioni da 5 micron.¹

Membrana basale

Fissare in formalina tamponata neutra al 10% o in soluzione di Bouin o Zenker e tagliare in sezioni di paraffina da 1-4 micron.¹

Note

Le vaschette di colorazione devono essere lavate con un concentrato liquido per la pulizia della vetreria da laboratorio Dishbrite, N. di cat. S4107, quindi con soluzione di candeggina, sciacquate bene in acqua di rubinetto e poi in almeno 6 bagni differenti di acqua deionizzata.

Se si utilizza un forno a microonde, consultare il relativo Manuale utente per le istruzioni.

Procedura standard

- Preparare la soluzione di lavoro di metanamina d'argento come descritto nella sezione "Preparazione" e metterla in un bagno ad acqua a 62 °C.
- Deparaffinare le sezioni di tessuto e reidratarle in acqua deionizzata.
- Mettere le sezioni reidratate in una soluzione di acido periodico per **5 minuti** per funghi e organismi opportunistici o **11 minuti** per la membrana basale.
- Rimuovere i vetrini e sciacquare in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.
- Per la dimostrazione di funghi e organismi opportunistici**, posizionare i vetrini in una soluzione di lavoro di metanamina d'argento preriscaldata. Esaminare al microscopio dopo 20 minuti. I funghi e gli organismi opportunistici dovrebbero essere di colore marrone scuro su uno sfondo giallo pallido.
Per la dimostrazione di membrana basale, posizionare i vetrini in una soluzione di lavoro di metanamina d'argento preriscaldata. Esaminare al microscopio dopo 30 minuti. La membrana basale dovrebbe essere di colore nero su uno sfondo giallo-marrone scuro.
NOTA: durante l'incubazione delle sezioni a 62 °C, posizionare una vaschetta Coplin contenente acqua deionizzata in un bagno ad acqua a 62 °C. Utilizzare quest'acqua per il risciacquo prima della valutazione descritta al Punto 5. Esaminare le sezioni al microscopio per una colorazione adeguata a intervalli stabili. Riposizionare i vetrini nella soluzione di lavoro di metanamina d'argento calda fino al raggiungimento dell'intensità desiderata.
- Rimuovere i vetrini dalla soluzione di lavoro di metanamina d'argento dopo aver ottenuto un'adeguata colorazione strutturale e sciacquare 6 volte in acqua deionizzata a temperatura ambiente.
- Sfumare le sezioni in soluzione di cloruro d'oro per **30 secondi**.
- Sciacquare 6 volte con acqua deionizzata a temperatura ambiente.
- Mettere le sezioni nella soluzione di tiosolfato di sodio per **2 minuti**.
- Sciacquare bene in acqua corrente di rubinetto.
- Controcolorare secondo le preferenze personali con soluzione di tartrazina, verde fast FCF, verde chiaro SF giallastro, soluzione di ematosilina di Harris o eosina Y soluzione.
- Disidratare in alcol, chiarificare in xilene, montare ed esaminare al microscopio.

Procedura con forno a microonde

- Deparaffinare i vetrini e idratarli in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di acido periodico contenuta in una vaschetta Coplin di plastica. Appoggiare il coperchio sulla vaschetta Coplin prima di metterla nel forno a microonde, oppure utilizzare vaschette Coplin con coperchi con i fori. Scaldare nel microonde a **800 watt per 10 secondi**. ***La soluzione di acido periodico può essere riutilizzata se utilizzata a temperatura ambiente per **5 minuti** anziché scaldata nel microonde. ***Per le membrane basali, il tempo di incubazione con la soluzione di acido periodico è di **11 minuti a temperatura ambiente**.
- Rimuovere i vetrini dalla soluzione di acido periodico e sciacquare in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di lavoro di metanamina d'argento contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Per organismi fungini** scaldare nel microonde a **600 watt per 35 secondi**. Mescolare delicatamente la soluzione con una pipetta beral o uno stick applicatore. Lasciare incubare per **2-3 minuti**. Dopo un tempo non superiore a **2 o 3 minuti**, posizionare i vetrini in acqua deionizzata calda e controllare lo sviluppo al microscopio. Se i microrganismi non sono sufficientemente sviluppati, rimettere i vetrini nella soluzione di lavoro di metanamina d'argento e lasciarli riposare da **30 secondi a 1 minuto** o fino al raggiungimento della tonalità desiderata.

NOTA: di seguito sono riportati i tempi di sviluppo suggeriti per i seguenti organismi:

Blastomyces	2 minuti
Pneumocystis	2-3 minuti
Aspergillus	2-3 minuti

Per la membrana basale scaldare in forno a microonde a **600 watt per 35 secondi**. Agitare delicatamente la soluzione. Lasciare incubare i vetrini per **5 minuti**. Scaldare nuovamente in forno a microonde a **600 watt per 10 secondi**. Lasciare che i vetrini si sviluppino per **2 minuti**. Verificare i vetrini al microscopio. Se i vetrini non sono sufficientemente sviluppati, ripetere l'ultimo passaggio fino a ottenere la tonalità desiderata.

- 6. Sciacquare i vetrini in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.
- 7. Sfumare i vetrini nella soluzione di cloruro d'oro per **30 secondi a temperatura ambiente**.
- 8. Sciacquare i vetrini in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.
- 9. Mettere i vetrini nella soluzione di tiosolfato di sodio per **2 minuti a temperatura ambiente**.
- 10. Sciacquare bene in acqua corrente di rubinetto.
- 11. Controcolorare secondo le preferenze personali con verde fast FCF, verde chiaro SF giallastro, soluzione di tartrazina, soluzione di ematosilina o eosina Y soluzione.
- 12. Disidratare in alcol, chiarificare in xilene, montare ed esaminare al microscopio.

Caratteristiche prestazionali

Struttura target	Risultato colorazione
Funghi	Da marrone violaceo a nero
P. carinii	Da marrone violaceo a nero
Membrana basale	Nero
Sfondo	A seconda della controcolorazione

Se i risultati osservati differiscono dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per richiedere assistenza.

Caratteristiche prestazionali analitiche

I risultati delle prestazioni analitiche per i test dati condotti su tutte le strutture target, confermano il 100% di sensibilità, specificità e ripetibilità.

N. cat.	Descrizione prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
HT1001	Soluzione di acido periodico	Organismi fungini	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT1002	Soluzione di borace	Organismi fungini	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT1003	Metanamina d'argento	Organismi fungini	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT1004	Soluzione di cloruro d'oro	Organismi fungini	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT1005	Soluzione di tiosolfato di sodio	Organismi fungini	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, fare riferimento alla Scheda dati di sicurezza e all'etichetta del prodotto.

HT100A:



- H271: Può provocare incendi o esplosioni; forte ossidante.
- H302: Nocivo se ingerito.
- H314: Provoca gravi ustioni cutanee e lesioni oculari.
- H317: Può causare una reazione cutanea allergica.
- H334: Se inalato, può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie.
- H351: Sospettato di provocare il cancro.
- 360FD: Può nuocere alla fertilità. Può danneggiare il feto.
- H373: Può provocare danni agli organi (tiroide) in caso di esposizione prolungata o ripetuta se ingerito.
- H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti a lunga durata.
- P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere e altre fonti di accensione. Vietato fumare.
- P273: Evitare il rilascio nell'ambiente.
- P280: Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/protezione per gli occhi/protezione per il viso.
- P303 + P361 + P353: SE A CONTATTO CON LA PELLE (o i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P304 + P340 + P310: SE INALATO: portare la persona all'aria aperta e metterla in una posizione comoda per respirare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P305 + P351 + P338: SE ENTRA A CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Se indossate, rimuovere le lenti a contatto se è facile farlo. Continuare a sciacquare.

Se durante l'utilizzo di questo dispositivo o a seguito del suo utilizzo si è verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e alla propria autorità nazionale.

Definizioni dei simboli

Simboli come definiti in EN ISO 15223-1:2021

	Produttore		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice lotto
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea/Unione Europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione Europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico per la diagnostica in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di produzione		Importatore

Riferimenti

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980.
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981.
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986.
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986.
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983.
- 6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986.
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990.
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992.

Informazioni di contatto

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com. Per assistenza tecnica, visitare la pagina dedicata all'assistenza tecnica sul nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com/techservice.

Cronologia delle revisioni

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato per uso professionale nell'uso previsto e nelle precauzioni. Spostata la dichiarazione relativa all'aiuto alla diagnosi nella sezione uso previsto. Aggiornata la sezione uso previsto per allinearla alle linee guida IVDR. Aggiornata Scheda dati sicurezza dei materiali in Scheda dati di sicurezza. Aggiornate le informazioni di contatto. Istruzioni rimosse per seguire il CLSI per la raccolta dei campioni. Rimossa EN 980 e modificata in EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunte informazioni di contatto per eventi avversi. Aggiunta sezione di avvertenze e pericoli.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instrucciones de uso

Tinción de plata
(GMS modificado)

N.º de procedimiento HT100



Uso previsto

El kit de tinción de plata (GMS modificado) se utiliza para demostrar la presencia histológica de hongos, membrana basal y algunos microorganismos oportunistas. El kit de tinción de plata es para "uso diagnóstico in vitro". Solo para uso profesional. Los datos obtenidos con este procedimiento manual y cualitativo identifican hongos, membrana basal y algunos microorganismos oportunistas en muestras de tejido de humanos. Si estos datos se revisan junto con otras pruebas de diagnóstico e información, se pueden utilizar como ayuda para el diagnóstico de las infecciones fúngicas.

Los procedimientos de metenamina-borato de plata están bien documentados,^{1,2} y generalmente requieren una elaborada preparación de la solución antes de realizar la prueba. La estabilidad de la solución es limitada y los resultados varían sustancialmente debido a la naturaleza caprichosa de la impregnación metálica y del desarrollo fotográfico.

El kit de tinción de plata incluye una sal de metenamina de plata estable, con tampón, reactivo de tinción y revelador. Este producto proporciona al laboratorio un medio único para visualizar hongos, la membrana basal y microorganismos oportunistas, como *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ También se incluyen técnicas de tinción de plata rápidas para hornos microondas.³⁻⁶

En resumen, la pared de la célula microbiana y los polisacáridos de la membrana basal se oxidan en aldehídos mediante tratamiento con ácido periódico. El grupo de aldehídos, a pH alcalino, reduce el ión de plata a plata metálica. El aclarado con sales de oro forma un complejo de oro más estable, y el exceso de plata se elimina mediante un lavado con tiosulfato.

Reactivos

Solución de ácido periódico (n.º de cat. HT1001-100ML)
Ácido periódico, 1 g/dl, en agua desionizada.

Solución de bórax (n.º de cat. HT1002-100ML)
Bórax, 5 g/dl, en agua desionizada. Peligro. Provoca graves quemaduras en la piel y daños en los ojos. Utilizar guantes/ropa protectora/protección ocular/protección facial.

Reactivo de metenamina de plata (n.º de cat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Metenamina de plata, 110 mg/vial. Peligro. Nociva en caso de ingestión. Provoca graves quemaduras en la piel y daños en los ojos. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias si se inhala. Se sospecha que causa cáncer.

Solución de cloruro de oro (n.º de cat. HT1004-100ML)
Cloruro de oro, 200 mg/dl, en agua desionizada.

Solución de tiosulfato sódico (n.º de cat. HT1005-100ML)
Tiosulfato sódico, 2 g/dl, en agua desionizada.

Material especial necesario pero no suministrado

- Fórceps de plástico o de metal recubiertos con parafina.
- Los portaobjetos de control positivo, tales como los de hongos TISSUE-TROL™ (n.º de cat. TTR004), deben incluirse en cada proceso.

Contratinciones (opcional)

(la elección depende de la muestra y de las preferencias individuales)

- Solución de tartrazina, n.º de cat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Solución de hematoxilina de Harris, n.º de cat. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Solución de eosina Y, alcohólica, n.º de cat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Solución de eosina Y, acuosa, n.º de cat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Solución de eosina Y, alcohólica con floxina, n.º de cat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF amarillento

Solo para procedimientos estándar:

- Baño de agua a 62 °C

Solo para procedimientos con microondas:

- Vasos de Coplin de plástico con tapas
- Horno microondas

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar refrigerados (2-8 °C) la solución de ácido periódico, el reactivo de metenamina de plata, la solución de cloruro de oro y la solución de tiosulfato sódico.

Almacenar la solución de bórax a temperatura ambiente (18-26 °C). NOTA: El bórax puede formar precipitado durante la refrigeración. Estabilizar a temperatura ambiente y volver a disolverlo antes de su uso.

Las etiquetas de los reactivos indican la fecha de caducidad.

Preparación

Preparar la solución de metenamina de plata mezclando 8 ml de solución de bórax, 100 ml de agua desionizada y el contenido del vial del reactivo de metenamina de plata. Mezclar hasta su total disolución. Utilizar una sola vez y desecharla.

NOTA: No se puede permitir que la solución de metenamina de plata entre en contacto con metales.

NOTA: Para aumentar las pruebas por vial a dos, la metenamina de plata puede disolverse en 100 ml de agua desionizada y almacenarse herméticamente cerrada. En refrigeración (2-8 °C) es estable durante 1 mes. En el momento de utilizarla, añada 4 ml de solución de bórax a 50 ml de solución de metenamina de plata. Devolver la solución de metenamina de plata sobrante al frigorífico.

Estabilizar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

Precauciones

Los dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (DMDIV) incluidos en este kit están destinados a un uso de diagnóstico in vitro en un entorno de laboratorio clínico. Estos DMDIV están destinados a un uso profesional por parte de personal cualificado. El personal de laboratorio capacitado de Sigma-Aldrich puede utilizar los DMDIV para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Se deben eliminar los residuos respetando todas las normativas locales, estatales, regionales o nacionales.

Los portaobjetos de control de hongos TISSUE-TROL™ son tejidos de animal embebidos en parafina con hongos y deben considerarse potencialmente infecciosos.

Procedimiento

Recogida de la muestra

Ningún método de prueba conocido puede ofrecer total garantía de que las muestras de sangre o tejidos no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Hongos y microorganismos oportunistas, como *P. carinii*

Fijar en formol tamponado neutro al 10 % o en solución de Bouin, embebidos en parafina, y realizar cortes de 5 micras.¹

Membrana basal

Fijar en formol tamponado neutro al 10 % o en solución de Bouin o de Zenker, y realizar cortes en parafina de 1-4 micras.¹

Notas

Los platos de tinción deben lavarse con concentrado de limpiador líquido de laboratorio Dishbrite (n.º de cat. S4107), y con solución blanqueadora; deben aclararse bien con agua del grifo y luego con agua desionizada realizando al menos 6 cambios.

Si se utiliza el horno microondas, deben consultarse las instrucciones en el Manual del propietario.

Procedimiento estándar

1. Preparar la solución de metenamina de plata, tal como se describe en la sección "Preparación", y colocarla en un baño de agua a 62 °C.
2. Desparafinar los cortes de tejido y rehidratar con agua desionizada.
3. Colocar los cortes rehidratados en solución de ácido periódico durante **5 minutos** para hongos y microorganismos oportunistas, u **11 minutos** para la membrana basal.
4. Extraer los portaobjetos y aclararlos con agua desionizada, realizando 6 cambios.
5. **Para demostrar la presencia de hongos y microorganismos oportunistas**, colocar los portaobjetos en la solución de metenamina de plata precalentada. Examinar en el microscopio después de 20 minutos. Los hongos y los microorganismos oportunistas deben ser de color marrón oscuro contra un fondo amarillo pálido.
Para demostrar la presencia de la membrana basal, colocar los portaobjetos en la solución de metenamina de plata precalentada. Examinar en el microscopio después de 30 minutos. La membrana basal debe ser negra contra un fondo entre amarillo oscuro y marrón.
NOTA: Mientras se incuban los cortes a 62 °C, colocar un vaso de Coplin con agua desionizada en un baño de agua a 62 °C. Utilizar esta agua para el aclarado antes de la evaluación del paso 5. Examinar los cortes en el microscopio para comprobar la tinción adecuada a los intervalos establecidos. Devolver los portaobjetos a la solución de metenamina de plata caliente, hasta que se obtenga la intensidad deseada.
6. Extraer los portaobjetos de la solución de metenamina de plata una vez que se haya obtenido la tinción estructural adecuada, y aclarar 6 veces con agua desionizada a temperatura ambiente.
7. Teñir los cortes con solución de cloruro de oro durante **30 segundos**.
8. Aclarar 6 veces con agua desionizada a temperatura ambiente.
9. Colocar los cortes en solución de tiosulfato sódico durante **2 minutos**.
10. Lavar bien con agua corriente del grifo.
11. Contrateñir, según las preferencias personales, con solución de tartrazina, Fast Green FCF, Light Green SF amarillento, solución de hematoxilina de Harris o solución de eosina Y.
12. Deshidratar en alcohol, aclarar en xileno, montar y examinar con el microscopio.

Procedimiento con microondas

1. Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
2. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido periódico dentro de un vaso de Coplin de plástico. Tapar el vaso de Coplin sin apretar la tapa, antes de colocarlo en el horno microondas, o utilizar vasos de Coplin con agujeros en las tapas. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**. ***La solución de ácido periódico puede volver a utilizarse solo si se ha usado a temperatura ambiente durante **5 minutos** en lugar de usar el microondas. ***Para las membranas basales, el tiempo de incubación de la solución de ácido periódico es de **11 minutos a temperatura ambiente**.
3. Extraer los portaobjetos de la solución de ácido periódico y aclararlos con agua desionizada, realizando 6 cambios.
4. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de metenamina de plata dentro de un vaso de Coplin de plástico.
5. **Para microorganismos fúngicos**, utilizar el microondas a **600 vatios** durante **35 segundos**. Mezclar cuidadosamente la solución con una pipeta Beral o una varilla aplicadora. Dejarla incubarse durante **2-3 minutos**. Tras un máximo de **2 a 3 minutos**, colocar los portaobjetos en agua desionizada caliente y comprobar el desarrollo con el microscopio. Si los microorganismos no están suficientemente desarrollados, volver a poner los portaobjetos en la solución de metenamina de plata y dejarlos allí de **30 segundos a 1 minuto** o hasta que se obtenga el tono deseado.
NOTA: Tiempos de desarrollo sugeridos para los siguientes organismos fúngicos:

Blastomyces	2 minutos
Pneumocystis	2-3 minutos
Aspergillus	2-3 minutos

Para la membrana basal, utilizar el microondas a **600 vatios** durante **35 segundos**. Agitar con cuidado la solución. Dejar incubar los portaobjetos durante **5 minutos**. Ponerlos por segunda vez en el horno microondas a **600 vatios** durante **10 segundos**. Dejar que los portaobjetos progresen durante **2 minutos**. Comprobar los portaobjetos con el microscopio. Si los portaobjetos no están suficientemente desarrollados, repetir el último paso hasta conseguir el tono deseado.

- 6. Aclarar los portaobjetos en agua desionizada, realizando 6 cambios.
- 7. Teñir los portaobjetos con solución de cloruro de oro durante **30 segundos a temperatura ambiente**.
- 8. Aclarar los portaobjetos en agua desionizada, realizando 6 cambios.
- 9. Colocar los portaobjetos en solución de tiosulfato sódico durante **2 minutos a temperatura ambiente**.
- 10. Lavar bien con agua corriente del grifo.
- 11. Contrateñir, según las preferencias personales, con solución de tartrazina, Fast Green FCF, Light Green SF amarillento, solución de hematoxilina de Harris o solución de eosina Y.
- 12. Deshidratar en alcohol, aclarar en xileno, montar y examinar con el microscopio.

Características de funcionamiento

Estructura objetivo	Resultado de la tinción
Hongos	De marrones-violáceos a negros
<i>P. carinii</i>	De marrón-violáceo a negro
Membrana basal	Negra
Fondo	Depende de la contratinción

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

Características de funcionamiento analítico

Los resultados del funcionamiento analítico de las pruebas realizadas en todas las estructuras objetivo confirman una sensibilidad, especificidad y repetibilidad del 100 %.

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especi-ficidad intraensayo	Sensibi-lidad in-traensayo	Especifi-cidad inter-ensayo	Sensibili-dad inter-ensayo
HT1001	Solución de ácido periódico	Microor-ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1002	Solución de bórax	Microor-ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1003	Metenamina de plata	Microor-ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1004	Solución de cloruro de oro	Microor-ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1005	Solución de tiosulfato sódico	Microor-ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

Consulte la ficha de seguridad y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

HT100A:



- H271: Puede provocar un incendio o una explosión; muy comburente.
- H302: Nocivo en caso de ingestión.
- H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.
- H351: Se sospecha que provoca cáncer.
- 360FD: Puede perjudicar a la fertilidad. Puede dañar al feto.
- H373: Puede provocar daños en los órganos (tiroides) tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.
- H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
- P210: Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. No fumar.
- P273: Evitar su liberación al medio ambiente.
- P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.
- P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Si durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, infórmelo al fabricante y/o a su representante autorizado y a su autoridad nacional.

Definiciones de los símbolos

Símbolos definidos en la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso		Código de lote
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador

Referencias

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Para solicitar el Servicio Técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historial de revisiones

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Se ha transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Se ha especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha movido la declaración de ayuda al diagnóstico al uso previsto. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices del IVDR. Se ha actualizado la hoja de datos de seguridad del material a la hoja de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se ha añadido una sección de advertencias y peligros.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Brugsanvisning

Sølvfarvestof (modificeret GMS)

Procedure nr. HT100



Tilsigtet brug

Sølvfarvestof modificeret GMS-sættet er beregnet til brug ved histologisk påvisning af svampe, basalmembran og visse opportunistiske organismer. Sølvfarvestofsættet er beregnet til "in vitro-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Dataene, som opnås med denne manuelle kvalitative procedure, bruges til at identificere svampe, basalmembran og visse opportunistiske organismer i vævsprøver fra mennesker. Disse data kan, når de gennemgås i sammenhæng med andre diagnostiske tests og oplysninger, bruges som en hjælp ved diagnosticering af svampeinfektioner.

Sølvmethenamin-borat-procedurer er veldokumenterede.^{1,2} Generelt kræver disse en omfattende forberedelse af opløsningen inden udførelse af testen. Opløsningsstabiliteten er begrænset, og resultaterne varierer markant på grund af metalimpregneringens og den fotografiske fremkalders lunefulde natur.

Sølvfarvestofsættet indeholder et stabilt arbejdssølvmethenaminsalt samt buffer, toningsreagens og fremkalder. Dette giver laboratoriet en unik pakke til visualisering af svampe, basalmembran og opportunistiske organismer såsom *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ En applikation til hurtig farvning ved brug af en mikrobølgeovn er inkluderet.³⁻⁶

Kort fortalt oxideres mikrobielle polysaccharider fra cellevægge og basalmembran til aldehyder, når de behandles med perjodsyre. Aldehydgruppen reducerer sølvion til metallisk sølv ved alkalisk pH. Skylning med guldsalte danner et mere stabilt guldkompleks, og overskydende sølv fjernes ved en thiosulfatvask.

Reagenser

Periodic Acid Solution (kat.nr. HT1001-100ML)
Perjodsyre, 1 g/dl, i demineraliseret vand.

Borax Solution (kat.nr. HT1002-100ML)

Borax, 5 g/dl, i demineraliseret vand. Fare. Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

Silver Methenamine Reagent (kat.nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Sølvmethenamin, 110 mg/hætteglas. Fare. Farlig ved indtagelse. Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Mistænkt for at fremkalde kræft.

Gold Chloride Solution (kat.nr. HT1004-100ML)
Guldklorid, 200 mg/dl, i demineraliseret vand.

Sodium Thiosulfate Solution (kat.nr. HT1005-100ML)
Natriumthiosulfat, 2 g/dl, i demineraliseret vand.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Plastpincet eller paraffinbelagt metalpincet.
- Positive kontrolobjektglas, såsom Fungi TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR004), skal inkluderes i hver kørsel.

Kontrastfarvestoffer (valgfrt)

(valget afhænger af prøven og individuelle præferencer)

- Tartrazine solution, kat.nr. HT302 [HT3024-120ML, HT3028-250ML]
- Harris Hematoxylin Solution, kat.nr. HHS [HHS16-500ML, HHS32-1L, HHS80-2.5L, HHS128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, kat.nr. HT1101 [HT110116-500ML, HT110132-1L, HT110180-2.5L, HT1101128-4L]
- Eosin Y Solution, Aqueous, kat.nr. HT1102 [HT110216-500ML, HT110232-1L, HT110280-2.5L, HT1102128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, With Phloxine, kat.nr. HT1103 [HT110316-500ML, HT110332-1L, HT110380-2.5L, HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Kun til standardprocedure:

- Vandbad, 62 °C

Kun til mikrobølgeprocedure:

- Coplin-skåle af plast med låg
- Mikrobølgeovn

Opbevaring og stabilitet

Opbevar perjodsyreopløsning, arbejdsopløsning af sølvmethenaminreagens, guldkloridopløsning og natriumthiosulfatopløsning i køleskab (2-8 °C).

Opbevar boraxopløsning ved stuetemperatur (18-26 °C). BEMÆRK: Borax kan danne bundfald under nedkøling. Bring til stuetemperatur og genopløs inden brug.

Reagensetiketterne er forsynet med udløbsdato.

Forberedelse

Forbered en arbejdsopløsning af sølvmethenamin ved at kombinere 8 ml boraxopløsning, 100 ml demineraliseret vand og indholdet af ét hætteglas med sølvmethenaminreagens. Bland, til det er opløst. Brug én gang, og bortskaf derefter.

BEMÆRK: Lad ikke sølvmethenaminarbejdsopløsning komme i kontakt med metaller.

BEMÆRK: For at øge antallet af tests pr. hætteglas med to kan sølvmethenamin opløses i 100 ml demineraliseret vand og opbevares tæt lukket. Denne opløsning er stabil i 1 måned, når den opbevares i køleskab (2-8 °C). Tag 50 ml sølvmethenaminopløsning, og tilsæt 4 ml boraxopløsning, når opløsningen skal bruges. Sæt den ubrugte portion sølvmethenaminopløsning tilbage i køleskabet. Foropvarm alle reagenser til stuetemperatur inden brug.

Forsigtighedsregler

IVD'erne, der er inkluderet i dette sæt, er beregnet til in vitro-diagnostisk brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er kun til professionel brug udført af kvalificeret personale. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratorieudstyr, og har en farveopfattelse og synsstyrke, som gør dem i stand til at skelne mellem farver og andre genstande under et mikroskop.

Normale forsigtighedsregler, der iagttages ved håndtering af laboratoriereagenser, skal følges. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale regler.

Fungi TISSUE-TROL™ kontrolobjektglas er fremstillet med paraffinindstøbt animalsk væv, der indeholder svampe, og skal betragtes som potentielt smittefarlige.

Procedure

Prøveindsamling

Ingen kendt testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at blodprøver eller væv ikke overfører smitte. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver betragtes som potentielt smittefarlige.

Svampe og opportunistiske organismer såsom *P. carinii*

Fikser i 10 % neutral bufferformalin eller Bouins opløsning, indstøb i paraffin og udskær snit på 5 mikron.¹

Basalmembran

Fikser i 10 % neutral bufferformalin, Bouins eller Zenkers opløsning, og udskær paraffinsnit på 1-4 mikron.¹

Bemærkninger

Farvningsskåle skal vaskes i Dishbrite flydende rengøringskoncentrat til laboratorieglass, kat.nr. S4107, derefter i blegeopløsning, skylles grundigt i postevand og derefter i mindst 6 hold demineraliseret vand.

Hvis der bruges en mikrobølgeovn, henvises der til brugervejledningen vedrørende anvisninger.

Standardprocedure

1. Forbered en arbejdsopløsning af sølvmethenamin som beskrevet i afsnittet "Forberedelse", og anbring den i et 62 °C vandbad.
2. Afparaffiner vævssnittene, og rehydrer i demineraliseret vand.
3. Placer de rehydrerede snit i perjodsyreopløsning i **5 minutter** for svampe og opportunistiske organismer eller **11 minutter** for basalmembran.
4. Fjern objektglassene, og skyl i 6 hold demineraliseret vand.
5. **Til påvisning af svampe og opportunistiske organismer** skal objektglassene placeres i en forvarmet arbejdsopløsning af sølvmethenamin. Undersøg mikroskopisk efter 20 minutter. Svampe og opportunistiske organismer skal være mørkebrune på en lysegul baggrund. **Til påvisning af basalmembran** skal objektglassene placeres i en forvarmet arbejdsopløsning af sølvmethenamin. Undersøg mikroskopisk efter 30 minutter. Basalmembran skal være sort på en mørk, gulbrun baggrund. **BEMÆRK:** Mens snittene inkuberer ved 62 °C, anbringes en Coplin-skål med demineraliseret vand i et 62 °C vandbad. Brug dette vand til at skylle før evaluering i trin 5. Undersøg snittene mikroskopisk for tilstrækkelig farvning ved de angivne intervaller. Sæt objektglassene tilbage i den varme arbejdsopløsning af sølvmethenamin, indtil den ønskede intensitet er opnået.
6. Fjern objektglassene fra arbejdsopløsningen af sølvmethenamin, når der er opnået tilstrækkelig strukturel farvning, og skyl 6 gange i demineraliseret vand ved stuetemperatur.
7. Farveton snittene i guldkloridopløsning i **30 sekunder**.
8. Skyl 6 gange i demineraliseret vand ved stuetemperatur.
9. Placer snittene i natriumthiosulfatopløsning i **2 minutter**.
10. Vask grundigt under rindende postevand.
11. Kontrastfarv i henhold til personlige præferencer med tartrazinopløsning, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harris' hæmatoxylinopløsning eller eosin Y-opløsning.
12. Dehydrer i alkohol, klarér i xylene, monter, og undersøg mikroskopisk.

Mikrobølgeprocedure

1. Afparaffiner objektglassene, og hydrer i demineraliseret vand.
2. Placer objektglassene i **40 ml** perjodsyreopløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast. Dæk Coplin-skålen løst med et låg, før den sættes i mikrobølgeovnen, eller brug Coplin-skåle med huller i lågene. Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**. ***Perjodsyreopløsning kan genbruges, hvis den anvendes ved stuetemperatur i **5 minutter** i stedet for opvarmet i mikrobølgeovn. ***For basalmembran er inkubationstiden i perjodsyreopløsning **11 minutter ved stuetemperatur**.
3. Fjern objektglassene fra perjodsyreopløsningen, og skyl i 6 hold demineraliseret vand.
4. Placer objektglassene i **40 ml** arbejdsopløsning af sølvmethenamin, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
5. **For svampeorganismer** skal der varmes i mikrobølgeovn ved **600 watt i 35 sekunder**. Bland forsigtigt opløsningen med en engangspipette eller applikatorpind. Lad inkubere i **2-3 minutter**. Efter højest **2 til 3 minutter** placeres objektglassene i varmt demineraliseret vand, og udviklingen kontrolleres mikroskopisk. Hvis organismene ikke er tilstrækkeligt udviklede, sættes objektglassene tilbage i arbejdsopløsningen af sølvmethenamin, hvor de forbliver i **30 sekunder** til **1 minut**, eller indtil den ønskede farvetone er opnået. **BEMÆRK:** Foreslåede udviklingstider for nedenstående svampeorganismer er som følger:

<i>Blastomyces</i>	2 minutter
<i>Pneumocystis</i>	2-3 minutter
<i>Aspergillus</i>	2-3 minutter

For basalmembran skal der varmes i mikrobølgeovn ved **600 watt i 35 sekunder**.

Rør forsigtigt i opløsningen. Lad objektglassene inkubere i **5 minutter**. Varm i mikrobølgeovn endnu en gang ved **600 watt i 10 sekunder**. Lad objektglassene udvikle sig i **2 minutter**. Kontrollér objektglassene under mikroskop. Hvis objektglassene ikke er tilstrækkeligt udviklede, gentages sidste trin, indtil den ønskede farvetone er opnået.

6. Skyl objektglassene i 6 hold demineraliseret vand.
7. Farveton objektglassene i guldkloridopløsning i **30 sekunder** ved **stuetemperatur**.
8. Skyl objektglassene i 6 hold demineraliseret vand.
9. Placer objektglassene i natriumthiosulfatopløsning i **2 minutter** ved **stuetemperatur**.
10. Vask grundigt under rindende postevand.
11. Kontrastfarv i henhold til personlige præferencer med Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, tartrazinopløsning, hæmatoxylinopløsning eller eosin Y-opløsning.
12. Dehydrer i alkohol, klarér i xylene, monter, og undersøg mikroskopisk.

Præstationskarakteristika

Målstruktur	Farvningsresultat
Svampe	Lilla-brun til sort
<i>P. carinii</i>	Lilla-brun til sort
Basalmembran	Sort
Baggrund	Afhænger af kontrastfarvning

Kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for at få hjælp, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

Resultaterne af analyseydelsen for de givne tests, der er udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % følsomhed, specificitet og repeatabelhed.

Kat. nr.	Produktbe- skrivelse	Mål	Specificitet i analyse	Følsomhed i analyse	Specificitet mellem analyser	Følsomhed mellem analyser
HT1001	Perjodsyreop- løsning	Svampeor- ganismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1002	Boraxopløsning	Svampeor- ganismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1003	Sølvme- thenamin	Svampeor- ganismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1004	Guldchloridop- løsning	Svampeor- ganismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1005	Natriumthiosul- fatopløsning	Svampeor- ganismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatablad og produktmærkning vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

HT100A:



- H271: Kan forårsage brand eller eksplosion, stærkt brandnærende.
- H302: Farlig ved indtagelse.
- H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.
- H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion.
- H334: Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding.
- H351: Mistænkt for at fremkalde kræft.
- 360FD: Kan skade forplantningsevnen. Kan skade det ufødte barn.
- H373: Kan forårsage organskader (skjoldbruskkirtel) ved længerevarende eller gentagen eksponering ved indtagelse.
- H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
- P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
- P273: Undgå udledning til miljøet.
- P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.
- P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge.
- P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det indberettes til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til den nationale myndighed i brugerens land.

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Katalognummer
	Se brugsanvisningen		Batchkode
	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/ Den Europæiske Union		Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret i IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør

Referencer

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Flyttet udtalelse om hjælp ved diagnosticering til tilsigtet brug. Revideret tilsigtet brug for at tilpasse til IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Afsnit med advarsler og farer tilføjet.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

Bruksanvisning

Silverfärg (modifierad GMS)

Förfarandebeteckning: HT100



Användningsområde

Kittet med silverfärg med modifierat GMS är avsett för användning till histologisk påvisning av svamp, basalmembran och vissa opportunistiska organismer. Kittet med silverfärg är avsett för in vitro-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Med de data som erhålls genom detta manuella, kvalitativa förfarande identifieras svampar, basalmembran och vissa opportunistiska organismer i vävnadsprover från människa. Dessa data kan användas till hjälp vid diagnostiseringen av svampinfektioner om de bedöms ihop med övriga diagnostiska undersökningar och uppgifter.

Förfarandena för silverfärgning med metenamin-borat är väldokumenterade.^{1,2} För dessa krävs i allmänhet en omsorgsfull lösningsberedning innan testet ska genomföras. Lösningens hållbarhet är begränsad och resultaten varierar anmärkningsvärt på grund av metallimpregneringens och den fotografiska framkallningens nyckfulla natur.

Silverfärgkittet som innehåller ett stabilt arbetande silvermetenaminsalt tillsammans med buffert, toningsreagens och framkallare. Därigenom får laboratoriet ett unikt paket för visualisering av svampar, basalmembran och opportunistiska organismer såsom *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ Det ingår även är en applikation för snabbfärgning i mikrovågsgugn.³⁻⁶

Kort uttryckt oxideras polysackariderna i de mikrobiella cellväggarna och basalmembranen till aldehyder genom en behandling med perjodsyra. Vid basiska pH-värden reducerar aldehydgruppen proteinerna till metallfärgat silver. Genom sköljning med gulsalter bildas ett hållbarare guldkomplex och överskottet av silver avlägsnas genom tiosulfattvätt.

Reagenser

Perjodsyralösning (kat.nr HT1001-100ML)
Perjodsyra, 1 g/dl, i avjoniserat vatten.

Boraxlösning (kat.nr HT1002-100ML)
Borax, 5 g/dl, i avjoniserat vatten. Fara. Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador. Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.

Silvermetenaminreagens (kat.nr HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Silvermetenamin, 110 mg/flaska. Fara. Skadligt vid förtäring. Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador. Kan orsaka allergiska eller astmatiska symtom eller andningssvårigheter vid inandning. Misstänks orsaka cancer.

Guldkloridlösning (kat.nr HT1004-100ML)
Guldklorid, 200 mg/dl, i avjoniserat vatten.

Natriumtiosulfatlösning (kat.nr HT1005-100ML)
Natriumtiosulfat, 2 g/dl, i avjoniserat vatten.

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Plasttång eller paraffinbelagd metalltång.
- Positiva kontrollglas, såsom Fungi TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR004) ska inkluderas i varje körning.

Motfärger (valfritt)

(Valet beror på proven och individuella preferenser)

- Tartrazinlösning, kat.nr HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris hematoxylinlösning, kat. nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L HHS128-4L]
- Eosin Y-lösning, alkoholhaltig, kat.nr HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin Y-lösning, vattenhaltig, kat.nr HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin Y-lösning, alkoholhaltig, med floxin, kat.nr HT1103 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Snabbgrönt FCF
- Gulaktigt ljusgrönt SF

Endast för standardförfaranden

- Vattenbad, 62 °C

Endast för mikrovågsförfaranden

- Coplin-burkar av plast med lock
- Mikrovågsgugn

Förvaring och hållbarhet

Förvara perjodsyralösning, silvermetenaminreagens, guldkloridlösning och natriumtiosulfatlösning i kylskåp (2–8 °C).

Förvara boraxlösning i rumstemperatur (18–26 °C). OBS! Borax kan bilda fällningar under kylförvaringen. Låt den uppnå rumstemperatur och lös upp den igen före användningstillfället.

Reagensetiketterna finns respektive utgångsdatum.

Beredning

Förbered arbetslösningen av silvermetenamin genom att blanda 8 ml boraxlösning, 100 ml avjoniserat vatten och innehålllet i en flaska silvermetenaminreagens. Blanda tills det lösts upp. Använd lösningen en gång och kassera den sedan.

OBS! Låt inte arbetslösningen av silvermetenamin komma i kontakt med metaller.

OBS! För att öka ut antalet test per injektionsflaska till två kan silvermetenaminet lösas i 100 ml avjoniserat vatten och förvaras med ett tättslutande lock. Denna lösning är hållbar i kylskåp (2–8 °C) i 1 månad. När lösningen är klar att använda tar du 50 ml av silvermetenaminlösningen och tillsätter 4 ml boraxlösning. Ställ tillbaka eventuell oanvänd del av silvermetenaminlösningen i kylskåpet. Förvärm alla reagens till rumstemperatur före användningstillfället.

Försiktighetsåtgärder

De medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik som ingår i detta kit är avsedda att användas i klinisk laboratoriemiljö. Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är endast avsedda att användas av kvalificerad personal. Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik från Sigma-Aldrich får användas av laboratoriepersonal som är utbildad i hantering av humanprover som kan vara smittsamma, användning av mikroskop och annan laboratorieutrustning samt har tillräckligt bra färgseende och synskärpa för att kunna urskilja färger och andra föremål under mikroskop.

Följ sedvanliga försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagens. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

Fungi TISSUE-TROL™ kontrollglas är paraffinbäddad djurvävnad som innehåller svamp och ska anses vara potentiellt smittsamma.

Förfarande

Provtagning

Inga kända testmetoder kan erbjuda fullständig garanti för att inte smitta överförs genom blodprover eller vävnad. Därför måste alla blodderivat och vävnadsprover betraktas som potentiellt smittsamma.

Svampar och opportunistiska organismer såsom *P. carinii*

Fixera i neutralbuffrad formalin 10 % eller en Bouins lösning, bädda in i paraffin och skär snitten i en tjocklek på 5 mikrometer.¹

Basalmembran

Fixera i neutralbuffrad formalin 10 % eller en Bouins-lösning, bädda in i paraffin och skär snitten i en tjocklek på 1–4 mikrometer.¹

Anmärkningar

Färgningsskållarna bör diskas i Dishbrite flytande rengöringskoncentrat för laboratorieglass, kat.nr S4107 och därefter rengöras i en blekmedelslösning, sköljas väl i kranvatten och sedan sköljas i minst minst sex byten med avjoniserat vatten.

Se bruksanvisningen för anvisningar om mikrovågsgugn används.

Standardförfarande

1. Bered en arbetslösning av silvermetenamin enligt beskrivningen i avsnittet "Beredning" och placera den i ett vattenbad på 62 °C.
2. Avparaffinera vävnadssnitten och hydrera till avjoniserat vatten.
3. Placera rehydrerade snitt i en perjodsyralösning och låt ligga, **5 minuter** för svampar och opportunistiska organismer och **11 minuter** för basalmembran.
4. Ta bort objektglaset och skölj med sex byten avjoniserat vatten.
5. **För påvisning av svamp och opportunistiska organismer:** Placera objektglaset i en förvärmad arbetslösning av silvermetenamin. Undersök mikroskopiskt efter 20 minuter. Svampar och opportunistiska organismer ska vara mörkbruna mot en ljusgul bakgrund. **För påvisning av basalmembran:** Placeras objektglaset i en förvärmad arbetslösning av silvermetenamin. Undersök mikroskopiskt efter 30 minuter. Basalmembran ska vara svarta mot en mörkt gulbrun bakgrund. **OBS!** Medan du inkuberar snitten i 62 °C placerar du en Coplin-burk med avjoniserat vatten i ett vattenbad på 62 °C. Använd detta vatten till sköljningen innan bedömningen i steg 5. Undersök snitten mikroskopiskt med angivna intervall för att se att färgningen är adekvat. Lägg tillbaka objektglaset i den varma arbetslösningen av silvermetenamin tills önskad intensitet har uppnåtts.
6. Ta upp objektglaset ur arbetslösningen av silvermetenamin när en adekvat färgning av strukturerna har uppnåtts och skölj 6 gånger i avjoniserat, rumstempererat vatten.
7. Tona snitten i guldkloridlösning under **30 sekunder**.
8. Skölj 6 gånger i avjoniserat, rumstempererat vatten.
9. Placera snitten i natriumtiosulfatlösningen och låt ligga i **2 minuter**.
10. Skölj ordentligt under rinnande kranvatten.
11. Gulaktigt ljusgrönt SF.
12. Dehydrera i alkohol, rengör i xylene, montera och undersök mikroskopiskt.

Mikrovågsförfarande

1. Avparaffinera objektglaset och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Placera objektglaset i **40 ml** perjodsyralösning i en Coplin-burk av plast. Täck Coplin-burken löst med lock innan du placerar den i mikrovågsgugnen eller använd Coplin-burkar med borrhål i locket. Värm i mikrovågsgugnen på **800 watt** under **10 sekunder**. ***Perjodsyralösningen kan återanvändas om den används i rumstemperatur under **5 minuter** istället för i mikrovågsgugn. ***För basalmembranen är inkubationstiden i perjodsyralösning **11 minuter i rumstemperatur**.
3. Ta upp objektglaset ur perjodsyralösningen och skölj med 6 byten avjoniserat vatten.
4. Placera objektglaset i **40 ml** silvermetenaminlösning i en Coplin-burk av plast.
5. **För svamporganismer:** Värm i mikrovågsgugn på **600 watt** under **35 sekunder**. Blanda försiktigt lösningen med en beralpipett eller appliceringssticka. Inkubera i **2–3 minuter**. Efter högst **2 till 3 minuter** placerar du objektglaset i varmt, avjoniserat vatten och kontrollerar utvecklingen mikroskopiskt. Om inte organismerna är tillräckligt utvecklade lägger du tillbaka objektglaset till arbetslösningen silvermetenamin av och låter dem ligga där i **30 sekunder** till **1 minut** eller tills önskad ton uppnåtts. **OBS!** Föreslag på utvecklingstider för följande svamporganismer:

Blastomyces	2 minuter
Pneumocystis	2–3 minuter
Aspergillus	2–3 minuter

För basalmembran: Värm i mikrovågsgugn på **600 watt** under **35 sekunder**. Rör försiktigt om i lösningen. Låt snitten inkubera i **5 minuter**. Värm en andra gång i mikrovågsgugn på **600 watt** under **10 sekunder**. Låt objektglaset utvecklas under **2 minuter**. Kontrollera objektglaset mikroskopiskt. Om inte objektglaset är tillräckligt utvecklade upprepar du det sista steget tills önskad ton uppnåtts.

6. Skölj objektglaset i 6 byten med avjoniserat vatten.
7. Tona snitten i en guldkloridlösning under **30 sekunder i rumstemperatur**.
8. Skölj objektglaset i 6 byten med avjoniserat vatten.
9. Placera objektglaset i natriumtiosulfatlösning och låt ligga där i **2 minuter i rumstemperatur**.
10. Skölj ordentligt under rinnande kranvatten.
11. Motfärga efter personlig preferens med tartrazinlösning, snabbgrönt FCF, gulaktigt ljusgrönt SF, hematoxylinlösning eller eosin Y-lösning.
12. Dehydrera i alkohol, rengör i xylene, montera och undersök mikroskopiskt.

Prestandaegenskaper

Målstruktur	Färgningsresultat
Svamp	Lila-brunt till svart
<i>P. carinii</i>	Lila-brunt till svart
Basalmembran	Svart
Bakgrund	Beror på motfärgen

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrichs för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

De analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeterbarhet.

Kat.nr	Produktbe- skrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
HT1001	Periodisk syralösning	Svampor- ganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1002	Boraxlösning	Svampor- ganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1003	Silvermete- namin	Svampor- ganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1004	Guldkloridlös- ning	Svampor- ganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1005	Natriumtio- sulfatlösning	Svampor- ganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för uppdaterad information om risker, fara och säkerhet.

HT100A:



- H271: Kan orsaka brand eller explosion; starkt oxidationsmedel.
- H302: Skadligt vid förtäring.
- H314: Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H317: Kan orsaka en allergisk hudreaktion.
- H334 : Kan orsaka allergiska eller astmatiska symtom eller andningssvårigheter vid inandning.
- H351: Misstänks orsaka cancer.
- 360FD: Kan skada fertiliteten. Kan skada det ofödda barnet.
- H373: Kan orsaka skador på organ (sköldkörteln) genom långvarig eller upprepad exponering vid förtäring.
- H412: Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.
- P210: Håll borta från värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
- P273: Undvik utsläpp i miljön.
- P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P303 + P361 + P353: VID KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas bekvämt. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P305 + P351 + P338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Om det har inträffat en allvarlig incident medan denna enhet använts eller som ett resultat av att den har använts, ska det rapporteras till tillverkaren och/eller dess auktoriserade representant samt myndigheten i ditt land.

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

	Tillverkare		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkod
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen		EU-försäkran om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Temperaturgräns		Iakttag försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör

Referenser

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silvermetenenamin-borat (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Späd ammoniakhaltigt silver som ersättning för metenaminsilver för påvisning av Pneumocystis carinii och svamp. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok och Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på SigmaAldrich.com. För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats SigmaAldrich.com/techservice.

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässig bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat påståendet "Hjälpmedel för diagnostisering" till "Användningsområde". Reviderat "Användningsområde" så att det motsvara riktlinjerna IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Lagt till kontaktuppgifter för biverkningar. Lade till avsnittet Varningar och faror.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instruções de utilização

Coloração de prata (GMS modificado)

Procedimento n.º HT100



Utilização prevista

O kit de coloração de prata (GMS modificado) destina-se a ser utilizado na demonstração histológica de fungos, membrana basal e alguns microrganismos oportunistas. O kit de coloração de prata destina-se a "Utilização em diagnóstico in vitro". Apenas para utilização profissional. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo manual identificam fungos, membrana basal e alguns microrganismos oportunistas em amostras de tecidos de espécimes humanos. Quando revistos em conjunto com outras informações e testes de diagnóstico, estes dados podem ser utilizados como auxiliar no diagnóstico de infeções fúngicas.

Os procedimentos de metenamina-borato de prata estão bem documentados.^{1,2} Geralmente, estes requerem uma preparação elaborada da solução antes da realização do teste. A estabilidade da solução é limitada e os resultados variam notavelmente devido à natureza caprichosa da impregnação do metal e do desenvolvimento fotográfico.

O kit de coloração de prata incorpora um sal de metenamina de prata ativo estável, juntamente com tampão, reagente de tonificação e revelador. Isto fornece ao laboratório um pacote único para visualização de fungos, membrana basal e microrganismos oportunistas como *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ Está incluída uma aplicação para coloração rápida utilizando um forno de micro-ondas.³⁻⁶

Em resumo, a parede celular microbiana e os polissacarídeos da membrana basal são oxidados em aldeídos por tratamento com ácido periódico. O grupo aldeído, a pH alcalino, reduz o ião de prata a prata metálica. O enxaguamento com sais de ouro forma um complexo de ouro mais estável e o excesso de prata é removido por uma lavagem com tiossulfato.

Reagentes

Solução de ácido periódico (N.º de cat. HT1001-100ML)
Ácido periódico, 1 g/dL, em água desionizada.

Solução de bórax (N.º de cat. HT1002-100ML)
Bórax, 5 g/dL, em água desionizada. Perigo. Provoca queimaduras cutâneas graves e lesões oculares. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

Reagente de metenamina de prata (N.º de cat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Metenamina de prata, 110 mg/frasco. Perigo. Nocivo por ingestão. Provoca queimaduras cutâneas graves e lesões oculares. Pode causar sintomas alérgicos ou de asma ou dificuldades respiratórias se inalado. Suspeito de provocar cancro.

Solução de cloreto de ouro (N.º de cat. HT1004-100ML)
Cloreto de ouro, 200 mg/dL, em água desionizada.

Solução de tiossulfato de sódio (N.º de cat. HT1005-100ML)
Tiossulfato de sódio, 2 g/dL, em água desionizada.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Pinça de plástico ou pinça metálica revestida com parafina.
- Devem ser incluídas em cada série lâminas de controlo positivo, como Fungi TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR004).

Contracolorações (opcional)

(a escolha depende da amostra e das preferências individuais)

- Solução de tartrazina, N.º de cat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Solução de hematoxilina de Harris, N.º de cat. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Solução de eosina Y, alcoólica, N.º de cat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Solução de eosina Y, aquosa, N.º de cat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Solução de eosina Y, alcoólica, com floxina, N.º de cat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- FCF verde rápido
- SF verde claro amarelado

Apenas para o procedimento padrão:

- Banho de água, 62 °C

Apenas para procedimentos em micro-ondas:

- Jarras de Coplin de plástico com tampas
- Forno micro-ondas

Conservação e estabilidade

Armazene a solução de ácido periódico, o reagente de metenamina de prata ativo, a solução de cloreto de ouro e a solução de tiossulfato de sódio refrigerada (2–8 °C).

Armazene a solução de bórax à temperatura ambiente (18–26 °C). NOTA: O bórax pode formar precipitado durante a refrigeração. Deixe atingir a temperatura ambiente e volte a dissolver antes de utilizar.

As etiquetas dos reagentes têm data de validade.

Preparação

Prepare a solução de trabalho de metenamina de prata combinando 8 mL de solução de bórax, 100 mL de água deionizada e o conteúdo de um frasco de reagente de metenamina de prata. Misture até dissolver. Utilize uma vez e, em seguida, elimine.

NOTA: Não permita que a solução de trabalho de metenamina de prata entre em contacto com metais.

NOTA: Para aumentar os testes por frasco para dois, a metenamina de prata pode ser dissolvida em 100 mL de água desionizada e armazenada bem tampada. Esta solução permanece estável quando refrigerada (2–8 °C) durante 1 mês. Quando estiver pronto a utilizar, misture 50 mL de uma solução de metenamina de prata com 4 mL de solução de bórax. Devolva a porção não utilizada de solução de metenamina de prata ao frigorífico.

Pré-aqueça todos os reagentes até à temperatura ambiente antes da utilização.

Precauções

Os DIV incluídos neste kit destinam-se a utilização para diagnóstico in vitro num ambiente de laboratório clínico. Estes DIV destinam-se apenas a utilização profissional por pessoal qualificado. Os DIV da Sigma-Aldrich podem ser utilizados por técnicos de laboratório com formação no manuseamento de amostras humanas potencialmente infecciosas e na utilização de microscópios e outros equipamentos laboratoriais e com perceção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

Devem seguir-se as precauções normais no manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

As lâminas de controlo Fungi TISSUE-TROL™ consistem em tecidos animais incluídos em parafina contendo fungos e devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

Procedimento

Colheita de amostras

Nenhum método de testagem conhecido pode oferecer uma garantia total de que as amostras sanguíneas ou tecido não transmitirão infeções. Por conseguinte, todos os derivados de sangue ou amostras de tecido devem ser considerados potencialmente infecciosos.

Fungos e microrganismos oportunistas como *P. carinii*

Fixe em formalina em tampão neutro a 10% ou em solução de Bouin, incorpore em parafina e corte secções de 5 micrones.¹

Membrana basal

Fixe em formalina em tampão neutro a 10%, em solução de Bouin ou de Zenker e corte secções de parafina de 1–4 micrones.¹

Notas

As tinas de coloração devem ser lavadas em concentrado de limpeza de vidro líquido de laboratório Dishbrite, N.º de cat. S4107, em seguida em solução de lixívia, bem enxaguadas em água da torneira e depois em pelo menos 6 mudas de água desionizada.

Se for utilizado um forno micro-ondas, consulte as instruções no Manual do utilizador.

Procedimento padrão

- Prepare a solução de trabalho de metenamina de prata conforme descrito na secção "Preparação" e coloque em banho-maria a 62 °C.
- Desparafine as secções de tecido e hidrate com água desionizada.
- Coloque secções reidratadas em solução de ácido periódico durante **5 minutos** para fungos e microrganismos oportunistas ou durante **11 minutos** para a membrana basal.
- Retire as lâminas e lave em 6 mudas de água desionizada.
- Para demonstração de fungos e microrganismos oportunistas**, coloque as lâminas em solução de trabalho de metenamina de prata pré-aquecida. Examine microscopicamente após 20 minutos. Os fungos e microrganismos oportunistas devem ser castanhos escuros contra um fundo amarelo pálido.
- Para demonstração da membrana basal**, coloque as lâminas em solução de trabalho de metenamina de prata pré-aquecida. Examine microscopicamente após 30 minutos. A membrana basal deve ser preta contra um fundo castanho-amarelado escuro.
- NOTA:** Ao incubar secções a 62 °C, coloque uma jarra de Coplin com água desionizada em banho-maria a 62 °C. Utilize esta água para o enxaguamento antes da avaliação no Passo 5. Examine microscopicamente as secções para uma coloração adequada a intervalos determinados. Devolva as lâminas à solução de trabalho de metenamina de prata quente até que a intensidade desejada seja alcançada.
- Remova as lâminas da solução de trabalho de metenamina de prata após ter sido obtida uma coloração estrutural adequada e lave 6 vezes em água desionizada à temperatura ambiente.
- Realize a coloração das secções em solução de cloreto de ouro durante **30 segundos**.
- Lave em água desionizada à temperatura ambiente 6 vezes.
- Coloque as secções em solução de tiossulfato de sódio durante **2 minutos**.
- Lave bem em água da torneira corrente.
- Proceda à contracoloração de acordo com a preferência pessoal com solução de tartrazina, FCF verde rápido, SF verde claro amarelado, solução de hematoxilina de Harris ou solução de eosina Y.
- Desidrate em álcool, limpe em xileno, monte e examine microscopicamente.

Procedimento em micro-ondas

- Desparafine e hidrate as lâminas com água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de ácido periódico contida numa jarra de Coplin de plástico. Cubra a jarra de Coplin sem apertar com a tampa antes de a colocar num forno micro-ondas ou utilize jarras de Coplin com orifícios perfurados nas tampas. Coloque no micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**. ***A solução de ácido periódico pode ser reutilizada se utilizada à temperatura ambiente durante **5 minutos** em vez de no micro-ondas. ***Para membranas basais, o tempo de incubação da solução de ácido periódico é de **11 minutos à temperatura ambiente**.
- Retire as lâminas da solução de ácido periódico e lave em 6 mudas de água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de trabalho de metenamina de prata contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Para microrganismos fúngicos**, coloque no micro-ondas a **600 watts** durante **35 segundos**. Misture suavemente a solução com uma pipeta de Beral ou uma vareta aplicadora. Deixe incubar durante **2–3 minutos**. Não mais do que **2 a 3 minutos** depois, coloque as lâminas em água desionizada morna e verifique microscopicamente o desenvolvimento. Se os microrganismos não estiverem suficientemente desenvolvidos, volte a colocar as lâminas na solução de trabalho de metenamina de prata e deixe repousar durante **30 segundos a 1 minuto** ou até se obter o tom desejado.

NOTA: Os tempos de desenvolvimento sugeridos para os seguintes microrganismos fúngicos são os seguintes:

Blastomyces	2 minutos
Pneumocystis	2-3 minutos
Aspergillus	2-3 minutos

Para a membrana basal, coloque no micro-ondas a **600 watts** durante **35 segundos**. Agite suavemente a solução. Deixe as lâminas incubar durante **5 minutos**. Leve ao micro-ondas uma segunda vez a **600 watts** durante **10 segundos**. Deixe as lâminas desenvolverem durante **2 minutos**. Verifique microscopicamente as lâminas. Se as lâminas não estiverem suficientemente desenvolvidas, repita o último passo até obter o tom desejado.

6. Lave as lâminas em 6 mudas de água desionizada.
7. Realize a coloração das lâminas em solução de cloreto de ouro durante **30 segundos à temperatura ambiente**.
8. Lave as lâminas em 6 mudas de água desionizada.
9. Coloque as lâminas em solução de tiosulfato de sódio durante **2 minutos à temperatura ambiente**.
10. Lave bem em água da torneira corrente.
11. Proceda à contracoloração de acordo com a preferência pessoal com FCF verde rápido, SF verde claro amarelado, solução de tartrazina, solução de hematoxilina ou solução de eosina Y.
12. Desidrate em álcool, limpe em xileno, monte e examine microscopicamente.

Características de desempenho

Estrutura alvo	Resultado de coloração
Fungos	Castanho-arroxeados a preto
<i>P. carinii</i>	Castanho-arroxeados a preto
Membrana basal	Preto
Fundo	Dependente da contracoloração

Se os resultados observados variarem dos resultados previstos, contacte a Assistência técnica da Sigma-Aldrich para obter ajuda.

Características de desempenho analítico

Os resultados do desempenho analítico para os testes indicados realizados em todas as estruturas alvo, confirmam uma sensibilidade de 100%, especificidade e repetibilidade.

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
HT1001	Solução de ácido periódico	Microrganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1002	Solução de bórax	Microrganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1003	Metenamina de prata	Microrganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1004	Solução de cloreto de ouro	Microrganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1005	Solução de tiosulfato de sódio	Microrganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e perigos

Consulte a Folha de Dados de Segurança e a rotulagem do produto para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos ou segurança.

HT100A:



- H271: Risco de incêndio ou de explosão; muito comburente.
- H302: Nocivo por ingestão.
- H314: Provoca queimaduras cutâneas graves e lesões oculares.
- H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
- H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.
- H351: Suspeito de provocar cancro.
- 360FD: Pode afetar a fertilidade. Pode afetar o nascituro.
- H373: Pode afetar os órgãos (tireoide) após exposição prolongada ou repetida, em caso de ingestão.
- H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
- P210: Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.
- P273: Evitar a libertação para o ambiente.
- P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.
- P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cautelosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

Caso tenha ocorrido algum incidente grave durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Definições dos símbolos

Símbolos conforme definidos na norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização		Código do lote
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/ União Europeia		Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva IVDR 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador

Referências

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok, Boon: Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site SigmaAldrich.com. Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site SigmaAldrich.com/techservice.

Histórico de revisões

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Declaração de auxiliar de diagnóstico movida para a utilização prevista. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do RDIV. Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Avisos e perigos adicionados.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Οδηγίες χρήσης

Χρώση αργύρου (τροποποιημένη GMS)

Διαδικασία αρ. HT100

IVD

CE

MERCK

Προοριζόμενη χρήση

Το kit χρώσης αργύρου τροποποιημένης GMS is προορίζεται για χρήση στην ιστολογική αναγνώριση μυκήτων, βασικής μεμβράνης και ορισμένων ευκαιριακών οργανισμών. Το kit χρώσης αργύρου προορίζεται για «in vitro διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτή τη μη αυτόματη, ποιοτική διαδικασία αναγνωρίζουν μύκητες, βασική μεμβράνη και ορισμένους ευκαιριακούς οργανισμούς σε δείγματα ανθρώπινων ιστών. Αυτά τα δεδομένα, όταν εξετάζονται σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές εξετάσεις και πληροφορίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοήθημα για τη διάγνωση μυκητιασικών λοιμώξεων.

Οι διαδικασίες βορικής μεθναμίνης αργύρου είναι καλώς τεκμηριωμένες.^{1,2} Γενικά, απαιτούν λεπτομερή παρασκευή του διαλύματος πριν από την εκτέλεση της δοκιμής. Η σταθερότητα του διαλύματος είναι περιορισμένη και τα αποτελέσματα ποικίλλουν σημαντικά λόγω της ιδιότροπης φύσης του εμποτισμού των μετάλλων και της φωτογραφικής ανάπτυξης.

Το kit χρώσης αργύρου περιλαμβάνει ένα σταθερό άλας μεθναμίνης αργύρου εργασίας μαζί με ρυθμιστικό διάλυμα, αντιδραστήριο χρωματισμού (toning) και developer. Αυτό παρέχει στο εργαστήριο ένα μοναδικό πακέτο για την οπτικοποίηση μυκήτων, βασικής μεμβράνης και ευκαιριακών οργανισμών όπως *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ Περιλαμβάνεται μια εφαρμογή για ταχεία χρώση με χρήση φούρνου μικροκυμάτων.³⁻⁶

Εν συντομία, οι πολυσακχαρίτες του μικροβιακού κυτταρικού τοιχώματος και της βασικής μεμβράνης οξειδώνονται σε αλδεΐδες μέσω επεξεργασίας με περιοδικό οξύ. Η αλδεϋδική ομάδα, σε αλκαλικό pH, ανάγει τα ιόντα αργύρου σε μεταλλικό άργυρο. Η έκπλυση με άλατα χρυσού σχηματίζει ένα πιο σταθερό σύμπλοκο χρυσού και η περίσσεια αργύρου απομακρύνεται με πλύση με θειοθειικό άλας.

Αντιδραστήρια

Διάλυμα περιοδικού οξέος (αρ. καταλόγου HT1001-100ML)

Περιοδικό οξύ, 1 g/dL, σε απιονισμένο νερό.

Διάλυμα βόρακα (αρ. καταλόγου HT1002-100ML)

Βόρακας, 5 g/dL, σε απιονισμένο νερό. Κίνδυνος. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.

Αντιδραστήριο μεθναμίνης αργύρου (αρ. καταλόγου HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Μεθναμίνη αργύρου, 110 mg/φιαλίδιο. Κίνδυνος. Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργικά συμπτώματα ή συμπτώματα δόσματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής. Υποποί για πρόκληση καρκίνου.

Διάλυμα χλωριούχου χρυσού (αρ. καταλόγου HT1004-100ML)

Χλωριούχος χρυσός, 200 mg/dL, σε απιονισμένο νερό.

Διάλυμα θειοθειικού νατρίου (αρ. καταλόγου HT1005-100ML)

Θειοθειικό νάτριο, 2 g/dL, σε απιονισμένο νερό.

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Πλαστική λαβίδα ή μεταλλική λαβίδα επικαλυμμένη με παραφίνη.
- Θετικές αντικειμενοφόροι ελέγχου, όπως Fungi TISSUE-TROL™ (αρ. καταλόγου TTR004) πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση.

Αντιχρώσεις (προαιρετικές)

(η επιλογή εξαρτάται από το δείγμα και τις ατομικές προτιμήσεις)

- Διάλυμα ταρτραζίνης, αρ. καταλόγου HT302 [HT3024-120ML, HT3028-250ML]
- Διάλυμα αιματοξυλίνης Harris, αρ. καταλόγου NHS [HHS16-500ML, HHS32-1L, HHS80-2.5L, HHS128-4L]
- Διάλυμα ηωσίνης Y, αλκοολικό, αρ. καταλόγου HT1101 [HT110116-500ML, HT110132-1L, HT110180-2.5L, HT1101128-4L]
- Διάλυμα ηωσίνης Y, υδατικό, αρ. καταλόγου HT1102 [HT110216-500ML, HT110232-1L, HT110280-2.5L, HT1102128-4L]
- Διάλυμα ηωσίνης Y, αλκοολικό με φλαξίνη, αρ. καταλόγου HT1103 [HT110316-500ML, HT110332-1L, HT110380-2.5L, HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Για τυπική διαδικασία μόνο:

- Υδατόλουτρο, 62 °C

Για διαδικασία μικροκυμάτων μόνο:

- Πλαστικά δοχεία Corlin με καπάκι
- Φούρνος μικροκυμάτων

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το διάλυμα περιοδικού οξέος, το αντιδραστήριο μεθναμίνης αργύρου εργασίας, το διάλυμα χλωριούχου χρυσού και το διάλυμα θειοθειικού νατρίου σε ψύξη (2–8 °C).

Φυλάσσετε το διάλυμα βόρακα σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ο βόρακας μπορεί να σχηματίσει ίζημα κατά τη διάρκεια της ψύξης. Φέρτε σε θερμοκρασία δωματίου και διαλύστε εκ νέου πριν από τη χρήση.

Οι ετικέτες των αντιδραστηρίων αναφέρουν την ημερομηνία λήξης.

Παρασκευή

Παρασκευάστε το διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας συνδυάζοντας 8 mL διαλύματος βόρακα, 100 mL απιονισμένου νερού και το περιεχόμενο ενός φιαλιδίου αντιδραστηρίου μεθναμίνης αργύρου. Αναμείξτε μέχρι να διαλυθούν. Χρησιμοποιήστε μία φορά και στη συνέχεια απορρίψτε.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μην αφήνετε το διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας να έρθει σε επαφή με μέταλλα.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για να αυξηθούν οι δοκιμές ανά φιαλίδιο σε δύο, η μεθναμίνη αργύρου μπορεί να διαλυθεί σε 100 mL απιονισμένου νερού και να αποθηκευτεί με ερμητικά κλειστό καπάκι. Το διάλυμα αυτό παραμένει σταθερό σε ψύξη (2–8 °C) για 1 μήνα. Όταν είστε έτοιμοι για χρήση, πάρτε 50 mL ενός διαλύματος μεθναμίνης αργύρου και προσθέστε 4 mL διαλύματος βόρακα. Επιστρέψτε το χρησιμοποιητό μέρος του διαλύματος μεθναμίνης αργύρου στο ψυγείο.
Προθερμάνετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

Προφυλάξεις

Τα βοηθήματα IVD που περιλαμβάνονται σε αυτά τα kit προορίζονται για in vitro διαγνωστική χρήση σε περιβάλλον κλινικού εργαστηρίου. Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό. Τα βοηθήματα IVD της Sigma-Aldrich μπορούν να χρησιμοποιούνται από εργαστηριακό προσωπικό το οποίο είναι εκπαιδευμένο να χειρίζεται ανθρώπινα δείγματα που μπορεί να είναι μολυσματικά, να χρησιμοποιεί μικροσκόπια και άλλων εργαστηριακών εξοπλισμό και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από το μικροσκόπιο.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνθήκες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Οι αντικειμενοφόροι ελέγχου Fungi TISSUE-TROL™ είναι εγκλεισμένοι σε παραφίνη ζωϊκής ιστός που περιέχει μύκητες και θα πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικός.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμίας δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν θα μεταδώσουν λοίμωξη. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή τα δείγματα ιστού θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά μολυσματικά.

Μύκητες και ευκαιριακοί οργανισμοί όπως *P. carinii*

Μονιμοποιήστε σε 10% ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης ή διάλυμα Bouin, εγκλείστε σε παραφίνη και κόψτε τομές 5 micron.¹

Βασική μεμβράνη

Μονιμοποιήστε σε 10% ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης, διάλυμα Bouin ή Zenker και κόψτε τομές παραφίνης 1–4 micron.¹

Σημειώσεις

Τα σκεύη χρώσης πρέπει να πλένονται με συμπυκνωμένο υγρό καθαρισμού υάλινων σκευών εργαστηρίου Dishbrite, αρ. καταλόγου S4107, στη συνέχεια με διάλυμα χλωρίνης, να ξεπλένονται καλά σε νερό βρύσης και στη συνέχεια σε τουλάχιστον 6 αλλαγές απιονισμένου νερού.

Εάν χρησιμοποιείται φούρνος μικροκυμάτων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης για οδηγίες.

Τυπική διαδικασία

- Παρασκευάστε διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας όπως περιγράφεται στην ενότητα «Παρασκευή» και τοποθετήστε το σε υδατόλουτρο 62 °C.
- Αποαραφινώστε τις τομές ιστού και ενυδατώστε εκ νέου σε απιονισμένο νερό.
- Τοποθετήστε τις επανενυδατωμένες τομές σε διάλυμα περιοδικού οξέος για **5 λεπτά** για μύκητες και ευκαιριακούς οργανισμούς ή **11 λεπτά** για βασική μεμβράνη.
- Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους και ξεπλύνετε σε 6 αλλαγές απιονισμένου νερού.
- Για την αναγνώριση μυκήτων και ευκαιριακών οργανισμών**, τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε προθερμασμένο διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας. Εξετάστε μικροσκοπικά μετά από 20 λεπτά. Οι μύκητες και οι ευκαιριακοί οργανισμοί πρέπει να έχουν σκούρο καφέ χρώμα σε ανοιχτό κίτρινο υπόβαθρο.
Για την αναγνώριση βασικής μεμβράνης, τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε προθερμασμένο διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας. Εξετάστε μικροσκοπικά μετά από 20 λεπτά. Οι μύκητες και οι ευκαιριακοί οργανισμοί πρέπει να έχουν σκούρο καφέ χρώμα σε ανοιχτό κίτρινο υπόβαθρο.
- ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Κατά την επώσηση τομών στους 62 °C, τοποθετήστε ένα δοχείο Corlin που περιέχει απιονισμένο νερό σε υδατόλουτρο 62 °C. Χρησιμοποιήστε αυτό το νερό για έκπλυση πριν από την αξιολόγηση στο Βήμα 5. Εξετάστε τις τομές μικροσκοπικά για επαρκή χρώση στα καθορισμένα χρονικά διαστήματα. Επιστρέψτε τις αντικειμενοφόρους στο ζεστό διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας μέχρι να επιτευχθεί η επιθυμητή ένταση.
- Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους από το διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας αφού επιτευχθεί επαρκής δομική χρώση και ξεπλύνετε 6 φορές σε απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προβείτε σε χρωματιστροφή των τομών σε διάλυμα χλωριούχου χρυσού για **30 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε με απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία δωματίου 6 φορές.
- Τοποθετήστε τις τομές σε διάλυμα θειοθειικού νατρίου για **2 λεπτά**.
- Πλύνετε καλά σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
- Αντιχρωματίστε ανάλογα με την προσωπική προτίμηση με διάλυμα ταρτραζίνης, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, διάλυμα αιματοξυλίνης Harris ή διάλυμα ηωσίνης Y.
- Αποφασίστε σε αλκοόλη, διαυγάστε σε ξυλένιο, καλύψτε και εξετάστε μικροσκοπικά.

Διαδικασία μικροκυμάτων

- Αποαραφινώστε τις αντικειμενοφόρους και ενυδατώστε σε απιονισμένο νερό.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος περιοδικού οξέος που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin. Καλύψτε χαλαρά το δοχείο Corlin με καπάκι πριν το τοποθετήσετε στον φούρνο μικροκυμάτων ή χρησιμοποιήστε δοχεία Corlin με οπές στα καπάκια. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **10 δευτερόλεπτα**. ***Το διάλυμα περιοδικού οξέος μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί εάν χρησιμοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για **5 λεπτά** αντί για φούρνο μικροκυμάτων. ***Για βασικές μεμβράνες, ο χρόνος επώσης του διαλύματος περιοδικού οξέος είναι **11 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου**.
- Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους από το διάλυμα περιοδικού οξέος και ξεπλύνετε σε 6 αλλαγές απιονισμένου νερού.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος μεθναμίνης αργύρου εργασίας που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
- Για μυκητιακούς οργανισμούς** εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **35 δευτερόλεπτα**. Αναμείξτε ήπια το διάλυμα με πιπέτα Beral ή στείλεό εφαρμογή. Αφήστε να επωαστεί για **2–3 λεπτά**. Μετά από όχι περισσότερο από **2 έως 3 λεπτά**, τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε ζεστό απιονισμένο νερό και ελέγξτε την ανάπτυξη μικροσκοπικά. Εάν οι οργανισμοί δεν έχουν αναπτυχθεί επαρκώς, επιστρέψτε τις αντικειμενοφόρους στο διάλυμα μεθναμίνης αργύρου εργασίας και αφήστε να παραμείνουν για **30 δευτερόλεπτα** έως **1 λεπτό** ή έως ότου επιτευχθεί ο επιθυμητός τόνος.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι προτεινόμενοι χρόνοι ανάπτυξης για τους ακόλουθους μυκητιακούς οργανισμούς έχουν ως εξής:

Βλαστομύκητες	2 λεπτά
<i>Pneumocystis</i>	2–3 λεπτά
<i>Aspergillus</i>	2–3 λεπτά

Για **βασική μεμβράνη** , εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **35 δευτερόλεπτα**. Αναδεύστε ήπια το διάλυμα. Αφήστε τις αντικειμενοφόρους να επωαστούν για **5 λεπτά**. Εφαρμόστε μικροκύματα για δεύτερη φορά στα **600 watt** για **10 δευτερόλεπτα**. Αφήστε τις αντικειμενοφόρους να αναπτυχθούν για **2 λεπτά**. Ελέγξτε τις αντικειμενοφόρους μικροσκοπικά. Εάν οι αντικειμενοφόροι δεν έχουν αναπτυχθεί επαρκώς, επαναλάβετε το τελευταίο βήμα έως ότου επιτευχθεί ο επιθυμητός τόνος.

6. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε 6 αλλαγές αποιονισμένου νερού.
7. Προβείτε σε χρωματοτροπή των αντικειμενοφόρων σε διάλυμα χλωριούχου χρυσού για **30 δευτερόλεπτα σε θερμοκρασία δωματίου**.
8. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε 6 αλλαγές αποιονισμένου νερού.
9. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε διάλυμα θειοθειικού νατρίου για **2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου**.
10. Πλύνετε καλά σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
11. Αντιχρωματίστε ανάλογα με την προσωπική προτίμηση με Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, διάλυμα ταρτρικού ή διάλυμα αιματοξυλίνης ή διάλυμα ηωσίνης Y.
12. Αφυδατώστε σε αλκοόλη, διαυγάστε σε ξυλένιο, καλύψτε και εξετάστε μικροσκοπικά.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Στοχευόμενη δομή	Αποτέλεσμα χρώσης
Μύκητες	Μοβ-καφέ έως μαύρο
<i>P. carinii</i>	Μοβ-καφέ έως μαύρο
Βασική μεμβράνη	Μαύρο
Υπόβαθρο	Εξαρτάται από την αντίχρωση

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

Τα αποτελέσματα απόδοσης της ανάλυσης για τις δεδομένες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις στοχευόμενες δομές, επιβεβαιώνουν την ευαισθησία, την ειδικότητα και την επαναληψιμότητα σε ποσοστό 100%.

Αρ.κα- ταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
HT1001	Διάλυμα περιοδικού οξέος	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1002	Διάλυμα βόρακα	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1003	Μεθenaμίνη αργύρου	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1004	Διάλυμα χλωριούχου χρυσού	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1005	Διάλυμα θειοθειικού νατρίου	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφαλείας.

HT100A:



- H271: Μπορεί να προκαλέσει πυρκαγιά ή έκρηξη· ισχυρό οξειδωτικό.
- H302: Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.
- H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- H317: Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.
- H334 Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής.
- H351: Ύποπτο για πρόκληση καρκίνου.

360FD: Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα. Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.

H373: Μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα όργανα (θυρεοειδής) ύστερα από παρατεταμένη ή επανειλημμένη έκθεση, σε περίπτωση κατάποσης.

H412: Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

P210: Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην κανιζέτε.

P273: Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

P303 + P361 + P353: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.

P304 + P340 + P310: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.

P305 + P351 + P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

Εάν, κατά τη διάρκεια της χρήσης αυτού του βοηθήματος ή ως αποτέλεσμα της χρήσης του, έχει συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό, παρακαλείστε να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στην εθνική αρχή της χώρας σας.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

	Κατασκευαστής		Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Αριθμός παρτίδας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/ Ευρωπαϊκή Ένωση		Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης		In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopits, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](#). Για τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 4.0	2016
Αναθ. 5.0	2022
Αναθ. 6.0	2022

Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η δήλωση βοηθήματος για διάγνωση μεταφέρθηκε στην προοριζόμενη χρήση. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανεπιθύμητα συμβάντα. Προσθήκη ενότητας προειδοποιήσεων και κινδύνων.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
--	---	--	--	--	--

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Használati utasítás

Ezüstimpregnálás (módosított GMS)

HT100 sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

Az ezüstimpregnáló (módosított GMS) készlet gombák, bazális membránok és bizonyos opportunistáknak szöveti kimutatására szolgál. Az ezüstimpregnáló készlet „in vitro diagnosztikai felhasználásra” szolgál. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok segítségével azonosíthatók az emberi szövetmintákban található gombák, a bazális membrán és bizonyos opportunisták. Ezek az adatok más diagnosztikai tesztekkel és információkkal együtt vizsgálva felhasználhatók a gombás fertőzések diagnosztizálásának elősegítésére.

Ezüst-meténamin-borát eljárások jól dokumentáltak.^{1,2} Ezek általában bonyolult oldat-előkészítést igényelnek a vizsgálat elvégzése előtt. Az oldat stabilítása korlátozott, és az eredmények jelentősen eltérnek a fémimpregnálás szeszélyes jellege és a fényképezési előhívás miatt.

Az ezüstimpregnáló készlet stabil, működő ezüst-meténamin sötét, puffert, tonizáló reagenst és előhívót tartalmaz. Ez a laboratórium számára egyedülálló csomagot biztosít gombák, a bazális membrán és opportunisták szövetek, pl. a *Pneumocystis carinii* kimutatására.³⁻⁵ Egy mikrohullámú sütő segítségével végezhető gyors festési eljárást is tartalmaz.³⁻⁶

Röviden összefoglalva, a mikrobiális sejtfal és a bazális membrán poliszacharidjai perjódosavas kezelés hatására aldehidekké oxidálódnak. Az aldehidcsoport, lúgos pH mellett, az ezüstiont fémpezüstté redukálja. Az arany sókkal történő öblítés stabilabb aranykomplexet képez, a felesleges ezüstöt pedig tioszulfátos mosással távolítható el.

Reagensek

Perjódosavas oldat (kat. sz. HT1001-100ML)
Perjódosav, 1 g/dl, ioncserélt vízben.

Bóraxoldat (kat. sz. HT1002-100ML)
Bórax, 5 g/dl, ioncserélt vízben. Veszély. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

Ezüst-meténamin reagens (kat. sz. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Ezüst-meténamin, 110 mg injekciós üvegenként. Veszély. Lenyelve ártalmas. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Feltehetően rákot okoz.

Arany-klorid oldat (kat. sz. HT1004-100ML)
Arany-klorid, 200 mg/dl, ioncserélt vízben.

Nátrium-tioszulfát oldat (kat. sz. HT1005-100ML)
Nátrium-tioszulfát, 2 g/dl, ioncserélt vízben.

Szükséges, de nem biztosított különleges anyagok

- Műanyag csipesz vagy paraffinbevonatos fémcsipesz.
- Pozitív kontroll tárgylemezeket, mint például a Gomba TISSUE-TROL™ (kat. sz. TTR004), minden kísérletben használni kell.

Ellenfestés (opcionális)

(a választás a mintától és az egyéni preferenciától függ)

- Tartrazinoldat, kat. sz. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris-féle hematoxilinnoldat, kat. sz. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eozin Y oldat, alkoholos, kat. sz. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eozin Y oldat, vizes, kat. sz. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eozin Y oldat, alkoholos, phloxine-nal, kat. sz. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF sárgás

Csak a standard eljáráshoz:

- Vízfürdő, 62 °C

Csak a mikrohullámos eljáráshoz:

- Műanyag küvetta fedéllel
- Mikrohullámú sütő

Tárolás és stabilitás

A perjódosavas oldatot, az ezüst-meténamin reagens munkoldatát, az arany-klorid oldatot és a hűtött nátrium-tioszulfát oldatot hűtőszekrényben (2–8 °C) kell tárolni.

A bóraxoldatot szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. MEGJEGYZÉS: A bórax a hűtés során csapadékké képezhet. Használat előtt szoba-hőmérsékletűre kell melegíteni, és újra fel kell oldani.

A reagensek mintákon a lejáratú idő szerepel.

Előkészítés

Készítse el az ezüst-meténamin munkoldatot 8 ml bóraxoldat, 100 ml ioncserélt víz és egy ezüst-meténamin reagensfiola tartalmának összekeverésével. Keverje, amíg fel nem oldódik. Használja egyszer, majd dobja ki.

MEGJEGYZÉS: Ne engedje, hogy az ezüst-meténamin munkoldat fémekkel érintkezzen.

MEGJEGYZÉS: Az egy injekciós üvegre eső vizsgálatok számának kétféle növelése érdekében az ezüst-meténamin feloldható 100 ml ioncserélt vízben, és szorosan lezárva tárolható. Ez az oldat hűtőszekrényben (2–8 °C) tárolva 1 hónapig stabil. Amikor készen áll a használatra, adjon 50 ml ezüst-meténamin oldathoz 4 ml bóraxoldatot. A fel nem használt ezüst-meténamin oldatot tegye vissza a hűtőszekrénybe.

Használat előtt melegítse szobahőmérsékletre a reagenseket.

Óvintézkedések

A készletben található in vitro diagnosztikai eszközöket klinikai laboratóriumi környezetben történő in vitro diagnosztikai felhasználásra szánták. Ezeket az in vitro diagnosztikai eszközöket csak képzett szakemberek használhatják. A Sigma-Aldrich in vitro diagnosztikai eszközöket olyan laboratóriumi személyzet üzemeltetheti, akik képzettek az esetlegesen fertőző emberi minták kezelésére, mikroszkópok és egyéb laboratóriumi berendezések használatában, valamint kellő színerzékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagensek kezelése során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékot a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A Gomba TISSUE-TROL™ kontroll tárgylemezeket paraffinba ágyazott, gombokat tartalmazó állati szövetek találhatók, amelyeket potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Eljárás

Mintavétel

Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújt teljes bizonyosságot arra nézve, hogy a vérminták vagy szövetek nem továbbítanak fertőzést. Ezért minden vérkészítményt vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Gombák és opportunisták organizmusok, pl. *P. carinii*

Rögzítse 10%-os semleges pufferelt formalinnal vagy Bouin-oldattal, ágyazza paraffinba és készítsen 5 mikronos metszeteket.¹

Bazális membrán

Rögzítse 10%-os semleges pufferelt formalinnal, Bouin-oldattal vagy Zenker-oldattal, majd készítsen 1–4 mikronos metszeteket.¹

Megjegyzések

A festődényeket Dishbrite laboratóriumi üveg tisztító folyékony mosogatószer-koncentrátummal (kat. sz. S4107) kell mosni, majd hipóoldattal, ezt követően jól le kell öblíteni csapvízzel, majd legalább 6-szor váltott ioncserélt vízzel.

Ha mikrohullámú sütőt használ, kérjük, olvassa el a Felhasználói kézikönyvet.

Standard eljárás

- Készítse el az ezüst-meténamin munkoldatot az „Előkészítés” részben leírtak szerint, és helyezze 62 °C-os vízfürdőbe.
- Deparaffinálja, majd hidratálja a metszeteket ioncserélt vízig.
- Helyezze a hidratált metszeteket perjódosavas oldatba gombák és opportunisták szövetek esetében **5 perc**re, illetve bazális membrán esetében **11 perc**re.
- Távolítsa el a tárgylemezeket, és öblítse 6-szor váltott ioncserélt vízben.
- Gombák és opportunisták szövetek kimutatásához** helyezze a tárgylemezeket előmelegített ezüst-meténamin munkoldatba. 20 perc elteltével vizsgálja meg mikroszkóp alatt. A gomboknak és az opportunisták szöveteknek sötétbarnának kell lenniük a halványsárga háttér előtt. **Bazális membrán kimutatásához** helyezze a tárgylemezeket előmelegített ezüst-meténamin munkoldatba. 30 perc elteltével vizsgálja meg mikroszkóp alatt. A bazális membránnak fekete színűnek kell lennie a sötétsárgás-barna háttér előtt.
- MEGJEGYZÉS:** Miközben 62 °C-on inkubálja a metszeteket, helyezzen egy ioncserélt vizet tartalmazó küvetta 62 °C-os vízfürdőbe. Használja ezt a vizet az öblítéshez az 5. lépésben leírt értékelés előtt. Meghatározott időközönként vizsgálja meg mikroszkóp alatt a metszeteket, hogy megfelelő-e a festés. A kívánt intenzitás eléréséig helyezze vissza a tárgylemezeket a meleg ezüst-meténamin munkoldatba.
- A megfelelő szerkezeti festődés elérése után távolítsa el a tárgylemezeket az ezüst-meténamin munkoldatból, és 6-szor öblítse azokat szoba-hőmérsékletű ioncserélt vízben.
- Tonizálja a metszeteket arany-klorid oldatban **30 másodperc**ig.
- Öblítse le 6-szor szoba-hőmérsékletű ioncserélt vízzel.
- Helyezze a metszeteket nátrium-tioszulfát oldatba **2 perc**re.
- Alaposan mossa le folyó csapvíz alatt.
- Végezzen ellenfestést személyes preferencia alapján tartrazinoldattal, Fast Green FCF-fel, világoszöld SF sárgás festékkel, Harris-féle hematoxilinnoldattal vagy eozin Y oldattal.
- Dehidratálja alkoholban, derítse xilolban, fedje le, és vizsgálja meg mikroszkóp alatt.

Mikrohullámos eljárás

- Deparaffinálja, majd hidratálja ioncserélt vízig a metszeteket.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** perjódosavas oldatba. Mielőtt behelyezné a mikrohullámú sütőbe, lazán fedje le a küvetta fedelével, vagy használjon a fedelekre fűrt lyukakkal ellátott küvetta. Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodperc**ig. *****A perjódosavas oldat akkor használható fel újra, ha mikrohullámú sütő helyett szobahőmérsékleten, 5 percig** használják. *****Bazális membránok esetében a perjódosavas oldat inkubációs ideje szobahőmérsékleten 11 perc.**
- Távolítsa el a tárgylemezeket a perjódosavas oldatból, és öblítse 6-szor váltott ioncserélt vízben.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** ezüst-meténamin munkoldatba.
- A gombok esetében** mikrohullámú sütőben **600 watton 35 másodperc**ig melegítse a tárgylemezeket. Óvatosan keverje össze az oldatot transzferpipettával vagy applikátorpálccal. Inkubálja **2–3 perc**ig. Legfeljebb **2–3 perc** elteltével helyezze a tárgylemezeket meleg ioncserélt vízbe, és mikroszkóp alatt ellenőrizze a festődést. Ha a szövetek nem festődtek meg kellőképpen, tegye vissza a tárgylemezeket az ezüst-meténamin munkoldatba, és inkubálja **30 másodperc** és **1 perc** közötti ideig vagy a kívánt festődés eléréséig.

MEGJEGYZÉS: A javasolt előhívási idő az alábbi gombok esetében a következők:

<i>Blastomyces</i>	2 perc
<i>Pneumocystis</i>	2–3 perc
<i>Aspergillus</i>	2–3 perc

Bazális membrán esetén melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 35 másodperc**ig. Óvatosan keverje meg az oldatot. Inkubálja a tárgylemezeket **5 perc**ig. Melegítse mikrohullámú sütőben másodszor **600 watton 10 másodperc**ig. Inkubálja a tárgylemezeket **2 perc**ig. Mikroszkóp alatt ellenőrizze a tárgylemezeket. Ha a tárgylemezek előhívása nem megfelelő, ismételje meg az utolsó lépést, amíg el nem éri a kívánt festődést.

- 6. 6-szor váltott ioncserélt vízzel öblítse le a tárgylemezeket.
- 7. Tonizálja a metszeteket arany-klorid oldatban **30 másodpercig szobahőmérsékleten**.
- 8. 6-szor váltott ioncserélt vízzel öblítse le a tárgylemezeket.
- 9. Helyezze a tárgylemezeket nátrium-tioszulfát oldatba **2 percre szobahőmérsékleten**.
- 10. Alaposan mossa le folyó csapvíz alatt.
- 11. Végezen ellenfestést személyes preferencia alapján Fast Green FCF-fel, világoszöld SF sárgás festékkel, tartrazinoldattal, hematoxilinolddal vagy eozin Y oldattal.
- 12. Dehidratálja alkoholban, derítse xilolban, fedje le, és vizsgálja meg mikroszkóp alatt.

Teljesítményjellemzők

Célstruktúra	Festési eredmény
Gombák	Bíborbarna–fekete
<i>P. carinii</i>	Bíborbarna–fekete
Bazális membrán	Fekete
Háttér	Az ellenfestéstől függ

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, forduljon a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatához segítségért.

Analitikai teljesítményjellemzők

Az adott tesztek analitikai teljesítményjellemzői az összes célstruktúrán vizsgálva 100% érzékenységet, specificitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specificitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specificitás	Tesztek közötti érzékenység
HT1001	Perjódsvavas oldat	Gombák	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1002	Bóraxoldat	Gombák	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1003	Ezüst-meténamin	Gombák	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1004	Arany-klorid oldat	Gombák	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1005	Nátrium-tioszulfát oldat	Gombák	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

A frissített kockázati, veszélyességi és biztonsági információkért olvassa el a biztonsági adatlapot és a termék címkézését.

HT100A:



H271: Tüzet vagy robbanást okozhat; erősen oxidáló hatású.

H302: Lenyelve ártalmas.

H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki.

H334: Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat.

H351: Feltehetően rákot okoz.

360FD: Feltehetően károsítja a termékenységet. Feltehetően károsítja a születendő gyermeket.

H373: Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén lenyelve károsíthatja a szerveket (pajzsmirigy).

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P210: Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.

P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos baleset történt, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy meghatalmazott képviselőjének és a helyi nemzeti hatóságoknak.

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jellek

	Gyártó		Katalógusszám
	Lásd a Használati utasítást		Gyártási tétel kódja
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/ Európai Unióban		Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Felhasználható		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr

Hivatkozások

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Átdolgozási előzmények

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnosizhoz nyújtott segítségről szóló nyilatkozat áthelyezése a rendeltetésszerű használatához. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

Návod k použití

Barvení stříbrem (modifikované Grocott-Gomoriho barvivo s methenaminem a stříbrem)

Postup č. HT100

MERCK



Určené použití

Sada s modifikovaným barvivem Silver Stain GMS je určena pro použití při histologickém průkazu hub/plísni, bazálních membrán a některých oportunních organismů. Sada Silver Stain je určena pro „diagnostické použití in vitro“. Pouze pro profesionální použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu identifikují houby/plísně, bazální membrány a některé oportunní organismy ve vzorcích tkání z lidských orgánů. Tyto údaje mohou být při přezkoumání ve spojení s dalšími diagnostickými testy a informacemi použity jako pomůcka při diagnostice houbových/plísňových infekcí.

Postupy s methenaminem-boritanem stříbrným jsou dobře zdokumentovány.^{1,2} Obecně platí, že tyto postupy vyžadují před provedením zkoušky komplikovanou přípravu roztoku. Stabilita roztoku je omezená a výsledky se výrazně liší v důsledku vrtošivé povahy impregnace kovů a fotografického vyvíjení.

Sada Silver Stain obsahuje stabilní pracovní sůl methenaminu stříbra spolu s puřem, tónovacím činidlem a vývojkou. Tím poskytuje laboratorní unikátní balíček pro vizualizaci hub/plísni, bazálních membrán a oportunních organismů, jako je *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ Součástí je aplikace pro rychlé barvení s pomocí mikrovlnného záhřevu.³⁻⁵

Stručně řečeno, polysacharidy mikrobiálních buněčných stěn a bazálních membrán jsou oxidovány na aldehydy působením kyseliny jodisté. Aldehydická funkční skupina při alkalickém pH redukuje ionty stříbra na kovové stříbro. Propláchnutím zlatitými solemi se vytvoří stabilnější komplex zlata a přebytečné stříbro se odstraní promýváním thiosíranem.

Činidla

Roztok kyseliny jodisté (kat. č. HT1001-100ML)
Kyselina jodistá, 1 g/100 ml, v deionizované vodě.

Roztok boraxu (kat. č. HT1002-100ML)
Borax, 5 g/100 ml, v deionizované vodě. Nebezpečí. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličeje.

Činidlo methenaminu stříbra (kat. č. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Methenamin stříbra, 110 mg v lahvičce. Nebezpečí. Zdraví škodlivý při požití. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Při vdechování může způsobit příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže. Podezření na vyvolání rakoviny.

Roztok chloridu zlatitého (kat. č. HT1004-100ML)
Chlorid zlatitý, 200 mg/100 ml, v deionizované vodě.

Roztok thiosíranu sodného (kat. č. HT1005-100ML)
Thiosíran sodný, 2 g/100 ml, v deionizované vodě.

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Plastové kleště nebo kovové kleště potažené parafínem.
- V každé zkoušce by měly být zařazeny pozitivní kontrolní preparáty, jako je Fungi TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR004).

Kontrastní barviva (volitelná)

(výběr závisí na vzorku a individuálních preferencích)

- Roztok tartrazinu, kat.č. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harrisův roztok hematoxylinu, kat. č. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Alkoholový roztok eosinu Y, kat.č. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Vodný roztok eosinu Y, kat.č. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Alkoholový roztok eosinu Y s floxinem, kat.č. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Mořská zeleň (Fast Green) FCF
- Světle zelená SF nažloutlá

Pouze pro standardní postup:

- Vodní lázeň, 62 °C

Pouze pro mikrovlnný postup:

- Plastové Coplinovy nádoby s víčky
- Mikrovlnná trouba

Skladování a stabilita

Uchovávejte roztok kyseliny jodisté, pracovní činidlo methenaminového stříbra, roztok chloridu zlatitého a roztok thiosíranu sodného v chladu (2–8 °C).

Roztok boraxu uchovávejte při pokojové teplotě (18–26 °C). POZNÁMKA: Borax může během uchovávání v chladničce vytvořit sraženinu. Před použitím zahřejte na pokojovou teplotu a znovu rozpuštěte.

Na štítcích činidla je uvedeno datum spotřeby.

Příprava

Připravte pracovní roztok methenaminového stříbra spojením 8 ml roztoku boraxu, 100 ml deionizované vody a obsahu jedné lahvičky činidla methenaminu stříbra. Míchejte, dokud se nerozpustí. Použijte jednou, pak zlikvidujte.

POZNÁMKA: Nedovolte, aby se pracovní roztok methenaminového stříbra dostal do kontaktu s kovy.

POZNÁMKA: Aby bylo možné provést z jedné lahvičky dva testy, může být methenamin stříbra rozpuštěn ve 100 ml deionizované vody a uchováván pevně uzavřený. Tento roztok je stabilní při uchovávání v chladničce (2–8 °C) po dobu 1 měsíce. Jakmile je připraven k použití, vezměte 50 ml jednoho roztoku methenaminového stříbra a přidejte 4 ml roztoku boraxu. Nepoužitou část roztoku methenaminového stříbra vraťte do chladničky.

Před použitím zahřejte činidla na pokojovou teplotu.

Bezpečnostní opatření

Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro obsažené v této soupravě jsou určeny pro diagnostické použití in vitro v klinickém laboratorním prostředí. Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pouze pro profesionální použití kvalifikovaným personálem. Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro Sigma-Aldrich mohou být používány laboratorními pracovníky, kteří jsou vyškoleni k manipulaci s lidskými vzorky, které mohou být infekční, k používání mikroskopů a jiného laboratorního vybavení a jejich barevné vidění a ostrost zraku jsou dostatečné pro rozlišení barev a různých objektů pod mikroskopem.

Při zacházení s laboratorními činidly dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Odpad zlikvidujte podle všech místních, regionálních či národních předpisů.

Kontrolní preparáty Fungi TISSUE-TROL™ jsou vzorky zvířecí tkáně zalité v parafínu s obsahem hub/plísni a měly by být považovány za potenciálně infekční.

Postup

Odběr vzorků

Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout naprosté ujištění, že vzorky krve nebo tkáně nebudou zdrojem infekce. Všechny krevní deriváty nebo vzorky tkání je proto nutné považovat za potenciálně infekční.

Houby/plísně a oportunní organismy jako *P. carinii*

Zafixujte 10% neutrálním puřovaným formalínem nebo Bouinovým roztokem, vložte do parafínu a řežte 5 mikronové řezy.¹

Bazální membrána

Zafixujte 10% neutrálním puřovaným formalínem, Bouinovým nebo Zenkerovým roztokem a připravte parafinové řezy o tloušťce 1–4 mikronů.¹

Poznámky

Misky na barvení by se měly umýt v tekutém laboratorním koncentrátu na mytí skleněného nádobí Dishbrite, kat. č. S4107, pak bělicím roztokem, opláchnout dobře ve vodovodní vodě a pak v nejméně 6krát vyměněné deionizované vodě.

Pokud používáte mikrovlnnou troubu, přečtěte si pokyny v Uživatelské příručce.

Standardní postup

- Připravte pracovní roztok methenaminového stříbra, jak je popsáno v části „Příprava“, a vložte jej do vodní lázně o teplotě 62 °C.
- Odparafinujte tkáňové řezy a rehydratujte pomocí deionizované vody.
- Vložte rehydratované řezy do roztoku kyseliny jodisté na **5 minut** pro houby/plísně a oportunní organismy nebo na **11 minut** pro bazální membránu.
- Vyjměte sklíčka a propláchněte 6 výměnami deionizované vody.
- Pro průkaz hub/plísni a oportunních organismů** umístěte sklíčka do přehřátého pracovního roztoku methenaminového stříbra. Po 20 minutách mikroskopicky vyšetřete. Houby/plísně a oportunní organismy by měly být tmavě hnědé na světle žlutém pozadí. **Pro průkaz bazální membrány** umístěte sklíčka do přehřátého pracovního roztoku methenaminového stříbra. Po 30 minutách mikroskopicky vyšetřete. Bazální membrána by měla být černá proti tmavě žlutohnědému pozadí.
- POZNÁMKA:** Při inkubaci řezů při teplotě 62 °C umístěte Coplinovu nádobu obsahující deionizovanou vodu do vodní lázně o teplotě 62 °C. Tuto vodu použijte k opláchnutí před vyhodnocením v kroku 5. Ve stanovených intervalech mikroskopicky prozkoumejte řezy, zda jsou dostatečně zbarvené. Vraťte sklíčka do teplého pracovního roztoku methenaminového stříbra, dokud nedosáhnete požadované intenzity.
- Po dosažení adekvátního strukturálního zbarvení vyjměte sklíčka z pracovního roztoku methenaminového stříbra a 6krát opláchněte v deionizované vodě pokojové teploty.
- Tónujte řezy v roztoku chloridu zlatitého po dobu **30 sekund**.
- Opláchněte v deionizované vodě pokojové teploty 6krát.
- Vložte řezy do roztoku thiosíranu sodného na **2 minuty**.
- Dobře vymyjte tekoucí vodou z vodovodu.
- Kontrastní barvení podle osobních preferencí roztokem tartrazinu, mořskou zelení FCF, světlou zelení SF nažloutlou, Harrisovým roztokem hematoxylinu nebo roztokem eosinu Y.
- Dehydratujte v alkoholu, projasněte v xylenu, zamontujte a mikroskopicky prohlédněte.

Mikrovlnný postup

- Odparafinujte sklíčka a hydratujte je pomocí deionizované vody.
- Vložte sklíčka do **40 ml** roztoku kyseliny jodisté obsažené v plastové Coplinově nádobě. Před vložením do mikrovlnné trouby volně zakryjte Coplinovu nádobu víčkem nebo použijte Coplinovy nádoby s otvory vyvrtnými do víček. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **10 sekund**. ***Roztok kyseliny jodisté lze použít opakovaně, pokud se používá při pokojové teplotě po dobu **5 minut** namísto mikrovlnného ohřevu. ***U bazálních membrán je doba inkubace v roztoku kyseliny jodisté **11 minut při pokojové teplotě**.
- Vyjměte sklíčka z roztoku kyseliny jodisté a propláchněte je v 6 výměnách deionizované vody.
- Vložte sklíčka do **40 ml** pracovního roztoku methenaminového stříbra obsaženého v plastové Coplinově nádobě.
- Pro houbové/plísňové organismy** proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **35 sekund**. Jemně promíchejte roztok pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou. Nechte inkubovat **2–3 minuty**. Po maximálně **2 až 3 minutách** umístěte sklíčka do teplé deionizované vody a mikroskopicky zkontrolujte vývoj. Pokud organismy nejsou dostatečně vyvinuté, vraťte sklíčka do pracovního roztoku methenaminového stříbra a nechte odstát **30 sekund až 1 minutu** nebo dokud nedosáhnete požadovaného tónu. **POZNÁMKA:** Navrhované vývojové časy pro následující houbové/plísňové organismy jsou následující:

<i>Blastomyces</i>	2 minuty
<i>Pneumocystis</i>	2–3 minuty
<i>Aspergillus</i>	2–3 minuty

U bazální membrány proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **35 sekund**. Roztok jemně promíchejte. Nechte sklička inkubovat **5 minut**. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **10 sekund**. Nechte preparáty **2 minuty** vyvíjet. Zkontrolujte preparáty mikroskopicky. Pokud nejsou preparáty dostatečně vyvinuté, opakujte poslední krok, dokud nedosáhnete požadovaného tónu.

- 6. Opláchněte sklička 6 výměnami deionizované vody.
- 7. Tónujte preparáty v roztoku chloridu zlatitého po dobu **30 sekund při pokojové teplotě**.
- 8. Opláchněte sklička 6 výměnami deionizované vody.
- 9. Vložte sklička do roztoku thiosíranu sodného na **2 minuty při pokojové teplotě**.
- 10. Dobře vymyjte tekoucí vodou z vodovodu.
- 11. Proveďte kontrastní barvení podle osobních preferencí mořskou zelení FCF, světlou zelení SF nažloutlou, roztokem tartrazinu nebo roztokem hematoxylinu nebo eosinu Y.
- 12. Dehydratujte v alkoholu, projasněte v xylenu, zamontujte a mikroskopicky prohlédněte.

Pracovní charakteristiky

Cílová struktura	Výsledek barvení
Plísně/houby	Nachově hnědá až černá
<i>P. carinii</i>	Nachově hnědá až černá
Bazální membrána	Černá
Pozadí	Závislé na kontrastním barvení

Pokud se pozorované výsledky liší od očekávaných výsledků, obraťte se na technický servis společnosti Sigma-Aldrich.

Analytické pracovní charakteristiky

Analytické výsledky daných testů provedených na všech cílových strukturách potvrzují 100% citlivost, specifčnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
HT1001	Roztok kyseliny jodisté	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1002	Roztok boraxu	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1003	Methenamin stříbra	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1004	Roztok chloridu zlatitého	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1005	Roztok thiosíranu sodného	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a rizika

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtěte v bezpečnostním listu a na označení výrobku.

HT100A:



- H271: Může způsobit požár nebo výbuch; silné oxidační činidlo.
- H302: Zdraví škodlivý při požití.
- H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci.
- H334 při vdechování může způsobit příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže.
- H351: Podezření na vyvolání rakoviny.
- 360FD: Může poškodit plodnost. Může poškodit nenarozené dítě.
- H373: Může způsobit poškození orgánů (štítná žláza) při dlouhodobé nebo opakované expozici při požití.
- H412: Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
- P210: Uchovávejte mimo dosah tepla, horkých povrchů, jisker, otevřeného ohně a jiných zdrojů vznícení. Zákaz kouření.
- P273: Zabráňte uvolňování do životního prostředí.
- P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P303 + P361 + P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.
- P304 + P340 + P310: PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.

Pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahlase to výrobci a/nebo jeho autorizovanému zástupci a vašemu národnímu úřadu.

Definice symbolů

Symboły definované v normě EN ISO 15223-1:2021

	Výrobce		Katalogové číslo
	Přečtěte si návod k použití		Kód šarže
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii		Prohlášení o shodě s předpisy Evropské unie (podle definice v IVD 2017/746)
	Datum spotřeby		Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce

Reference

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnologie: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historie revizí

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Přesunutí nápovědy k určení diagnózy do Určeného použití. Revidované Určené použití k dosažení souladu s pokyny IVD. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Přidána část Varování a rizika.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Silver Stain (modifisert GMS)

Prosedyrenr. HT100



Tiltenkt bruk

Silver Stain modifisert GMS-settet er ment for bruk i histologisk påvisning av sopp, basalmembran og enkelte opportunistiske organismer. Silver Stain-settet er for "in-vitro-diagnostisk bruk". Kun for profesjonell bruk. Dataene hentet fra denne håndboken, kvalitativ prosedyre identifiserer sopp, basalmembran og enkelte opportunistiske organismer i vevsprøver av humane prøver. Når disse dataene vurderes i forbindelse med andre diagnostiske tester og informasjon, kan de brukes som en hjelp til diagnostisering av soppinfeksjoner.

Sølvmetenaminborat-prosedyrer er godt dokumenterte.^{1,2} Disse prosedyrene krever ofte klargjøring av en forseggjort løsning for testytelse. Løsningsstabiliteten er begrenset og resultatene varierer bemerkelsesverdig på grunn av de lunefulle egenskapene til metallimpregnering og fotografisk fremkalling.

Sølvfargesettet inneholder et stabilt fungerende sølvmetenaminsalt sammen med buffer, toningsreagens og fremkaller. Dette gir laboratoriet en unik pakke for å visualisere sopp, basalmembran og opportunistiske organismer som *Pneumocystis carinii*.³⁻⁵ Inkludert er en applikasjon for rask farging ved hjelp av en mikrobølgeovn.³⁻⁶

Kort fortalt oksideres mikrobielle cellevegger og basalmembranpolysakkarider til aldehyder ved behandling med periodinsyre. Aldehydgruppen reduserer, ved alkalisk pH, sølvion til metallisk sølv. Skylling med gullsalter danner et mer stabilt gullkompleks, og overflødig sølv fjernes ved en tiosulfatvask.

Reagenser

Perjodsyreløsning (kat.nr. HT1001-100ML)
Perjodsyre, 1 g/dl, i avionisert vann.

Boraksløsning (kat.nr. HT1002-100ML)
Boraks, 5 g/dl, i avionisert vann. Fare. Gir alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. Bruk vernehansker/verneklær/øyeskyttelse/ansiktsbeskyttelse.

Sølvmetenaminreagens (kat.nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Sølvmetenamin, 110 mg/hetateglass. Fare. Färlig ved svelging. Gir alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. Kan forårsake allergiske eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Mistenkt for å forårsake kreft.

Gullkloridløsning (kat.nr. HT1004-100ML)
Gullklorid, 200 mg/dl, i avionisert vann.

Natriumtiosulfatløsning (kat.nr. HT1005-100ML)
Natriumtiosulfat, 2 g/dl, i avionisert vann.

Spesielle materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

- Plasttang eller parafinbelagt metalltang.
- Positive kontrollglass, som Fungi TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR004), skal inkluderes i hver kjøring.

Motfarging (valgfritt)

(valget avhenger av prøven og individuelle preferanser)

- Tartrazinløsning, kat.nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris hematoksylinløsning, kat.nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2,5 L; HHS128-4L]
- Eosin Y-løsning, alkoholholdig, kat.nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin Y-løsning, vannholdig, kat.nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin Y-løsning, alkoholholdig, med floksin, kat.nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Hurtigrønn FCF
- Lysegrønn SF Gulaktig

Kun for standardprosedyre:

- Vannbad, 62 °C

Kun for mikrobølgeprosedyrer:

- Coplin-krukker i plast med lokk
- Mikrobølgeovn

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar perjodsyreløsning, sølvmetenamin-arbeidsreagens, gullkloridløsning og natriumtiosulfatløsning i kjøleskap (2–8 °C).

Oppbevar boraksløsning ved romtemperatur (18–26 °C). MERK: Boraks kan danne bunnfall under kjøling. La den få romtemperatur og oppløs før bruk.

Reagensetiketter har utløpsdato.

Klargjøring

Klargjør sølvmetenamin-arbeidsreagens ved å blande 8 ml boraksløsning, 100 ml avionisert vann og innholdet i ett hetateglass med sølvmetenaminreagens. Bland til det er oppløst. Bruk én gang, og kast deretter.

MERK: Ikke la sølvmetenamin-arbeidsløsning komme i kontakt med metaller.

MERK: For å øke testene per hetateglass til to, kan sølvmetenamin løses opp i 100 ml avionisert vann og oppbevares med tett lokk. Denne løsningen er stabil når avkjølt (2–8 °C) i 1 måned. Når løsningen er klar til bruk, tar du 50 ml av en sølvmetenaminløsning og tilsetter 4 ml boraksløsning. Sett den ubrukte andelen av sølvmetenaminløsningen tilbake i kjøleskapet. Forvarm alle reagensene til romtemperatur før bruk.

Forsiktighetsregler

IVD-ene inkludert i dette settet er beregnet for in vitro-diagnostisk bruk i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD-ene er kun for profesjonell bruk av kvalifisert personell. IVD-er fra Sigma-Aldrich kan betjenes av laboratoriepersonell med opplæring i å håndtere humane prøver som kan være smittefarlige, bruke mikroskoper og annet laboratorieutstyr og ha tilstrekkelig fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre gjenstander under et mikroskop.

Vanlige forholdsregler ved håndtering av laboratoriereagenser skal følges. Kast avfall i henhold til lokale, statlige eller nasjonale forskrifter.

Fungi TISSUE-TROL™ kontrollglass er parafinnstøpt animalsk vev som inneholder sopp, og skal betraktes som potensielt smittefarlig.

Prosedyre

Prøveinnhenting

Ingen kjente testmetoder kan fullt ut garantere at blodprøver eller vev ikke vil overføre infeksjon. Derfor skal alle blodderivater eller vevsprøver betraktes som potensielt smittefarlige.

Sopp og opportunistiske organismer som *P. carinii*

Fiksér i 10 % nøytral bufret formalin eller Bouins løsning, støp inn i parafin og skjær snitt på 5 mikron.¹

Basalmembran

Fiksér i 10 % nøytral bufret formalin, Bouins eller Zenkers løsning og skjær snitt på 1–4 mikron.¹

Merknader

Fargekar skal vaskes i Dishbrite flytende rengjøringskonsentrat for laborateglass, kat. nr. S4107, deretter blekeløsning, skylles godt i springvann og deretter i minst 6 skift avionisert vann.

Hvis det brukes mikrobølgeovn, se brukerhåndboken for instruksjoner.

Standardprosedyre

1. Klargjør sølvmetenamin-arbeidsløsning som beskrevet i avsnittet "Forberedelse" og plasser i 62 °C vannbad.
2. Avparafiniser vevsnittene og rehydrer dem til avionisert vann.
3. Plasser rehydrerte deler i periodisk syreløsning i **5 minutter** for sopp og opportunistiske organismer eller **11 minutter** for basalmembran.
4. Fjern objektglassene og skyll i 6 skift med avionisert vann.
5. **For påvisning av sopp og opportunistiske organismer** plasseres objektglassene i forvarmet sølvmetenamin-arbeidsløsning. Undersøk i mikroskop etter 20 minutter. Sopp og opportunistiske organismer skal være mørkebrune mot en blekgul bakgrunn. **For påvisning av basalmembran** plasseres objektglassene i forvarmet sølvmetenamin-arbeidsløsning. Undersøk i mikroskop etter 30 minutter. Basalmembran skal være svart mot mørk gulbrun bakgrunn. **MERK:** Mens du inkuberer snittene ved 62 °C, plasserer du en Coplin-krukke som inneholder avionisert vann, i et 62 °C vannbad. Bruk dette vannet til å skylle før evaluering i trinn 5. Undersøk i mikroskop at snittene har tilstrekkelig farging ved angitte intervaller. Sett objektglassene tilbake i varm sølvmetenamin-arbeidsløsning til ønsket intensitet er oppnådd.
6. Fjern objektglassene fra sølvmetenamin-arbeidsløsningen etter at tilstrekkelig strukturell farging er oppnådd, og skyll 6 ganger i romtemperert, avionisert vann.
7. Nyanser snittene i gullkloridløsning i **30 sekunder**.
8. Skyll i romtemperert, avionisert vann 6 ganger.
9. Legg snittene i natriumtiosulfatløsning i **2 minutter**.
10. Vask godt i rennende springvann.
11. Motfarg etter personlig preferanse med Tartrazin-løsning, hurtigrønn FCF, lysegrønn SF gulaktig, Harris hematoksylinløsning eller eosin Y-løsning.
12. Dehydrer i alkohol, klarne i xylen, monter og undersøk i mikroskop.

Mikrobølgeprosedyre

1. Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
2. Plasser objektglassene i **40 ml** perjodsyreløsning i en Coplin-krukke av plast. Dekk Coplin-krukken løst med lokk før den settes i mikrobølgeovnen, eller bruk Coplin-krukker med hull i lokket. Kjør i mikrobølgeovn på **800 watt i 10 sekunder**. ***Perjodsyreløsning kan gjenbrukes hvis den brukes ved romtemperatur i **5 minutter** i stedet for mikrobølgeovn. ***For basalmembraner er inkubasjonstiden i perjodsyreløsning **11 minutter ved romtemperatur**.
3. Ta objektglassene ut av perjodsyreløsningen og skyll i dem 6 skift med avionisert vann.
4. Plasser objektglassene i **40 ml** sølvmetenamin-arbeidsløsning i en Coplin-krukke av plast.
5. **For sopporganismer:** Kjør i mikrobølgeovn på **600 watt i 35 sekunder**. Bland løsningen forsiktig med en beralpipette eller applikatorpinne. La den inkludere i **2–3 minutter**. Etter maksimalt **2 til 3 minutter** plasseres objektglassene i varmt avionisert vann. Kontroller utviklingen i mikroskop. Hvis organismene ikke er tilstrekkelig utviklet, legger du objektglassene tilbake i sølvmetenamin-arbeidsløsningen. La dem ligge i **30 sekunder** til **1 minutt** eller til ønsket nyanse er oppnådd. **MERK:** Foreslåtte utviklingstider for følgende sopporganismer er som følger:

Blastomyces	2 minutter
Pneumocystis	2–3 minutter
Aspergillus	2–3 minutter

For basalmembran: Kjør i mikrobølgeovn på **600 watt i 35 sekunder**. Rør forsiktig om løsningen. La objektglassene inkludere i **5 minutter**. Kjør i mikrobølgeovn en andre gang ved **600 watt i 10 sekunder**. La objektglassene utvikle seg i **2 minutter**. Sjekk objektglass i mikroskop. Hvis objektglassene ikke er tilstrekkelig utviklet, gjentar du siste trinn til ønsket nyanse er oppnådd.

6. Skyll objektglassene i 6 skift med avionisert vann.
7. Nyanser objektglassene i gullkloridløsning i **30 sekunder** ved **romtemperatur**.
8. Skyll objektglassene i 6 skift med avionisert vann.
9. Legg snittene i natriumtiosulfatløsning i **2 minutter** ved **romtemperatur**.
10. Vask godt i rennende springvann.
11. Motfarg etter personlig preferanse med hurtigrønn FCF, lysegrønn SF gulaktig, Tartrazin-løsning eller hematoksylinløsning eller eosin Y-løsning.
12. Dehydrer i alkohol, klarne i xylen, monter og undersøk i mikroskop.

Ytelsesegenskaper

Målstruktur	Fargingsresultat
Sopp	Lilla-brun til svart
<i>P. carinii</i>	Lilla-brun til svart
Basalmembran	Svart
Bakgrunn	Avhengig av motfarging

Hvis de observerte resultatene avviker fra de forventede resultatene, skal du kontakte Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene utført på alle målstrukturer bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repeterbarhet.

Kat. nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet
HT1001	Periodisk syreløsning	Sopporga-nismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1002	Boraks løsning	Sopporga-nismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1003	Sølvmetenamin	Sopporga-nismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1004	Gullkloridløsning	Sopporga-nismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1005	Natriumtiosul-fatløsning	Sopporga-nismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

Se sikkerhetsdatablad og produktmerking for oppdatert risiko-, fare- eller sikkerhetsinformasjon.

HT100A:



- H271: Kan forårsake brann eller eksplosjon; sterkt oksidasjonsmiddel.
- H302: Farlig ved svelging.
- H314: Gir alvorlige hudbrannskader og øyeskader.
- H317: Kan gi en allergisk hudreaksjon.
- H334 Kan gi allergi- eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding.
- H351: Mistenkt for å forårsake kreft.
- 360FD: Kan skade fruktbarheten. Kan skade det ufødte barnet.
- H373: Kan påføre skade på organer (nyre) ved langvarig eller gjentagende eksponering ved svelging.
- H412: Skadelig for plankton med langvarige effekter.
- P210: Skal holdes unna varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antennelseskilder. Røyking forbudt.
- P273: Unngå utslipp i miljøet.
- P280: Bruk vernehansker/vernekler/vernebriller/ansiktsvern.
- P303 + P361 + P353: VED PÅFØRING PÅ HUDEN (eller håret): Ta umiddelbart av alle forurensede klær. Skyll huden med vann.
- P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at det er behagelig å puste. Ring umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/lege.
- P305 + P351 + P338: VED PÅFØRING I ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de er tilgjengelige og det er enkelt å gjøre. Fortsett å skylle.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under eller som følge av bruk av denne enheten, skal den rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant og til din nasjonale myndighet.

Symboldefinisjoner

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap/EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Brukes innen-dato		In-vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktig
	Produksjonsdato		Importør

Referanser

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2. utg., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktinformasjon

Besøk nettstedet vårt på SigmaAldrich.com for å legge inn en bestilling. For teknisk service, besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice.

Revisjonshistorikk

Rev. 4.0	2016	
Rev. 5.0	2022	
Rev. 6.0	2022	Overført til ny mal med gjeldende merkevarebygging. Spesifisert for profesjonell bruk, for tiltenkt bruk og forholdsregler. Flyttet hjelp til diagnoseerklæring til tiltenkt bruk. Revidert tiltenkt bruk for å samsvare med IVDR-retningslinjene. Oppdatert materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdatert kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Lagt til kontaktinformasjon for uønskede hendelser. Lagt til advarsler og farer.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

Sigma-Aldrich®

Kullanma Talimatı

Gümüş Boya (Modifiye GMS)

Prosedür No. HT100



Kullanım Amacı

Gümüş Boya modifiye GMS kitinin, mantarların, bazal membran ve bazı fırsatçı organizmaların histolojik gösteriminde kullanımı amaçlanır. Gümüş Boya kiti "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanımdır. Bu manuel kalitatif prosedürden elde edilen veriler, insan numunelerinin Doku örneklerinde mantarları, bazal membran ve bazı fırsatçı organizmaları belirler. Bu veriler, diğer tanı testleri ve bilgilerle birlikte gözden geçirildiğinde mantar enfeksiyonlarının tanısına yardımcı olarak kullanılabilir.

Gümüş metenamin-borat prosedürleri hakkında birçok belge vardır.^{1,2} Genellikle bu prosedürlerde, test gerçekleştirilmeden önce ayrıntılı solüsyon hazırlığı gerekir. Solüsyon stabilitesi sınırlıdır ve metal emilimi ve fotoğrafik gelişimin değişken doğası nedeniyle sonuçlar önemli ölçüde farklılık gösterir.

Gümüş Boya Kiti, tampon, tonlama reaktifi ve geliştirici ile birlikte stabil çalışan bir gümüş metenamin tuzu içerir. Bu sayede laboratuvara mantarları, bazal membran ve *Pneumocystis carinii* gibi fırsatçı organizmaları görselleştirmek için benzersiz bir paket sunulur.³⁻⁵ Mikrodalga fırın kullanarak hızlı boyama için bir uygulama dahil edilmiştir.³⁻⁶

Kısaca, mikrobiyal hücre duvarı ve bazal membran polisakkaritleri, periyodik asit ile işlenerek aldehitlere oksitlenir. Aldehit grubu, alkali pH'ta gümüş iyonunu metalik gümüşe indirger. Altın tuzları ile durulama, daha stabil bir altın kompleksi oluşturur ve fazla gümüş, bir tiyosülfat yıkaması ile giderilir.

Reaktifler

Periyodik Asit Solüsyonu (Kat. No. HT1001-100ML)

Periyodik asit, 1 g/dL, deiyonize suda.

Boraks Solüsyonu (Kat. No. HT1002-100ML)

Boraks, 5 g/dL, deiyonize suda. Tehlike. Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

Gümüş Methenamin Reaktifi (Kat. No. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Gümüş metenamin, 110 mg/şişe. Tehlike. Yutulduğunda zararlıdır. Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur. Solunması halinde alerji veya astım semptomlarına ya da solunum güçlüğüne neden olabilir. Kanserle neden olabilir.

Altın Klorür Solüsyonu (Kat. No. HT1004-100ML)

Deiyonize suda altın klorür, 200 mg/dL.

Sodyum Tiyosülfat Solüsyonu (Kat. No. HT1005-100ML)

Deiyonize suda sodyum tiyosülfat, 2 g/dL.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Plastik forseps veya parafin kaplı metal forseps.
- Fungi TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR004) gibi pozitif kontrol lamaları her çalışmaya dahil edilmelidir.

Zıt boyama (isteğe bağlı)

(seçim numuneye ve kişisel tercihlere bağlıdır)

- Tartrazin solüsyonu, Kat. No. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris Hematoksilin Solüsyonu, Kat. No. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eozin Y Solüsyonu, Alkollü, Kat. No. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eozin Y Solüsyonu, Sulu, Kat. No. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eozin Y Solüsyonu, Alkollü ve Floksinli, Kat. No. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Hızlı Yeşil FCF
- Açık Yeşil SF Sarımsı

Yalnızca Standart Prosedür İçin:

- Su banyosu, 62°C

Yalnızca Mikrodalga Prosedürü İçin:

- Kapaklı plastik Coplin kavanozları
- Mikrodalga Fırın

Saklama ve Stabilite

Periyodik Asit Solüsyonunu, Çalışma Gümüş Metenamin Reaktifini, Altın Klorür Solüsyonunu ve Sodyum Tiyosülfat Solüsyonunu buzdolabında (2–8°C) saklayın.

Boraks Solüsyonunu oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. NOT: Boraks, soğutma sırasında çökelti oluşturabilir. Kullanmadan önce oda sıcaklığına getirin ve çökeltiyi çözdürün.

Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi bulunur.

Hazırlama

8 mL Boraks Solüsyonu, 100 mL deiyonize su ve bir Gümüş Metenamin Reaktif şişesinin içeriğini birleştirerek Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonu hazırlayın. Çözülene kadar karıştırın. Bir kez kullanın, sonra atın.

NOT: Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonunun metallerle temas etmesine izin vermeyin.

NOT: Şişe başına test sayısını ikiye çıkarmak için, Gümüş Metenamin 100 mL deiyonize su içinde çözülebilir ve kapağı sıkıca kapatılmış olarak saklanabilir. Bu solüsyon, buzdolabında (2–8°C) 1 ay süreyle stabildir. Kullanıma hazır olduğunda, 50 mL bir Gümüş Metenamin Solüsyonu alın ve 4 mL Boraks Solüsyonu ekleyin. Gümüş Metenamin Solüsyonunun kullanılmayan kısmını buzdolabına geri koyun. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirin.

Önlemler

Bu kitte bulunan IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanımdır. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarını kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

Fungi TISSUE-TROL™ kontrol lamaları, mantar içeren parafine gömülü hayvan dokusudur ve potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan örneklerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Mantar ve Fırsatçı Organizmalar (*P. carinii* gibi)

%10 nötr tamponlu formalin veya Bouin Solüsyonu ile fiksasyon gerçekleştirin, parafine gömün ve 5 mikronluk kesitler kesin.¹

Bazal Membran

%10 nötr tamponlu formalin, Bouin veya Zenker Solüsyonu ile fiksasyon gerçekleştirin, 1–4 mikronluk parafin kesitler kesin.¹

Notlar

Boyama kapları Dishbrite sıvı laboratuvar cam eşyaları temizleme konsantresi, Kat. S4107, ardından ağartma solüsyonuyla yıkanmalı, musluk suyunda ve ardından en az 6 kez değiştirilen deiyonize suda iyice durulanmalıdır.

Mikrodalga fırın kullanılıyorsa talimatlar için lütfen ürünün Kullanım Kılavuzuna bakın.

Standart Prosedür

- Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonunu "Hazırlama" bölümünde anlatıldığı gibi hazırlayın ve 62°C'lik su banyosuna koyun.
- Doku kesitlerini deparafinize edin ve deiyonize suyla tekrar hidratlayın.
- Rehidre kesitleri, mantarlar ve fırsatçı organizmalar için **5 dakika** boyunca veya bazal membran için **11 dakika** boyunca Periyodik Asit Solüsyonunda tutun.
- Lamaları çıkartın ve 6 kez değiştirdiğiniz deiyonize su ile durulayın.
- Mantarların ve Fırsatçı Organizmaların Gösterimi için**, lamaları önceden ısıtılmış Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonuna yerleştirin. 20 dakika sonra mikroskopa inceleyin. Mantarlar ve fırsatçı organizmalar, soluk sarı bir arka plana karşı koyu kahverengi olmalıdır. **Bazal Membranın Gösterimi için**, lamaları önceden ısıtılmış Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonuna yerleştirin. 30 dakika sonra mikroskopa inceleyin. Bazal membran koyu sarı-kahverengi arka plan üzerinde siyah olmalıdır. **NOT:** Kesitleri 62°C'de inkübe ederken deiyonize su içeren bir Coplin kavanozunu 62°C'lik su banyosuna yerleştirin. Adım 5'teki değerlendirilmeden önce bu suyu durulama için kullanın. Yeterli boyama için kesitleri belirtilen aralıkta mikroskopa inceleyin. Lamaları, istenen yoğunluğa ulaşılan kadar ılık Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonuna geri koyun.
- Yeterli yapısal boyama elde edildikten sonra lamaları Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonundan çıkarın ve oda sıcaklığında deiyonize suda 6 kez durulayın.
- Altın Klorür Solüsyonunda **30 saniye** boyunca kesitleri güçlendirin.
- Oda sıcaklığında deiyonize suda 6 kez durulayın.
- Kesitleri **2 dakika** boyunca Sodyum Tiyosülfat Solüsyonuna yerleştirin.
- Akan musluk suyunda iyice yıkayın.
- Tartrazine solüsyonu, Hızlı Yeşil FCF, Açık Yeşil SF Sarımsı, Harris Hematoksilin Solüsyonu veya Eozin Y Solüsyonu ile kişisel tercihinize göre zıt boyama yapın.
- Alkolde dehidratlayın, ksilende temizleyin, yerleştirin ve mikroskopa inceleyin.

Mikrodalga Prosedürü

- Lamaları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Periyodik Asit Solüsyonuna yerleştirin. Mikrodalga fırına yerleştirmeden önce Coplin kavanozunun kapağını gevşek bir şekilde kapatın veya delik kapaklı Coplin kavanozları kullanın. **10 saniye** boyunca **800 watt** seviyesinde mikrodalgada tutun. ***Periyodik Asit Solüsyonu, mikrodalga fırın yerine oda sıcaklığında **5 dakika** boyunca kullanılırsa yeniden kullanılabilir. ***Bazal membranlar için Periyodik Asit Solüsyonu Inkübasyon süresi **oda sıcaklığında 11 dakikadır**.
- Lamaları Periyodik Asit Solüsyonundan çıkarın ve 6 kez değiştirdiğiniz deiyonize su ile durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonuna yerleştirin.
- Mantar Organizmaları için 600 watt** seviyesinde **35 saniye** boyunca mikrodalgada tutun. Solüsyonu bir beral pipet veya aplikatör çubuğu ile hafifçe karıştırın. **2–3 dakika** boyunca inkübe edin. **2 ila 3 dakikayı** geçmeden lamaları ılık deiyonize suya koyun ve gelişimi mikroskopa kontrol edin. Organizmalar yeterince gelişmemişse lamaları Çalışma Gümüş Metenamin Solüsyonuna geri koyun ve **30 saniye** ila **1 dakika** boyunca veya istenen ton elde edilene kadar bekletin.

NOT: Aşağıdaki mantar organizmaları için önerilen gelişme süreleri aşağıdaki gibidir:

Blastomikoz	2 dakika
<i>Pnömositis</i>	2–3 dakika
<i>Aspergillus</i>	2–3 dakika

Bazal Membran için 600 watt seviyede **35 saniye** boyunca mikrodalgada tutun. Solüsyonu hafifçe çalkalayın. Lamaları **5 dakika** inkübe edin. **10 saniye** boyunca **600 watt** seviyede ikinci kez mikrodalga fırında tutun. Lamaların **2 dakika** boyunca gelişmesine izin verin. Lamaları mikroskopa kontrol edin. Lamalar yeterince gelişmemişse istenen ton elde edilene kadar son adımı tekrarlayın.

- Lamaları 6 kez değiştirdiğiniz deiyonize su ile durulayın.
- Lamaları Altın Klorür Solüsyonunda **30 saniye** boyunca **oda sıcaklığında** güçlendirin.
- Lamaları 6 kez değiştirdiğiniz deiyonize su ile durulayın.
- Lamaları **2 dakika** boyunca **oda sıcaklığında** Sodyum Tiyosülfat Solüsyonuna yerleştirin.
- Akan musluk suyunda iyice yıkayın.

- Hızlı Yeşil FCF, Açık Yeşil SF Sarımsı, Tartrazine solüsyonu, Hematoksilin Solüsyonu veya Eozin Y Solüsyonu ile kişisel tercihinize göre zıt boyama yapın.
- Alkolde dehidratlayın, ksilende temizleyin, yerleştirin ve mikroskopa inceleyin.

Performans Özellikleri

Hedef Yapı	Boyama Sonucu
Mantarlar	Morumsu-kahverengiden siyaha
<i>P. carinii</i>	Morumsu-kahverengiden siyaha
Bazal Membran	Siyah
Arka Plan	Zıt boyamaya bağlı

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

Tüm hedef yapılar üzerinde yürütülen belirli testlere ait analitik performans sonuçları %100 duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliği doğrulamaktadır.

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliiller Arası Özgüllük	Tahliiller Arası Duyarlılık
HT1001	Periyodik Asit Çözeltisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1002	Boraks Çözeltisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1003	Gümüş Metenamin	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1004	Altın Klorür Çözeltisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1005	Sodyum Tiyoülfat Çözeltisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

Güncellenmiş herhangi bir risk, tehlike veya güvenlik bilgisi için Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine bakın.

HT100A:



H271: Yangına veya patlamaya yol açabilir; güçlü oksitleyici.

H302: Yutulduğunda zararlıdır.

H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H317: Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.

H334: Solunması halinde alerji veya astım semptomlarına ya da solunum güçlüğüne neden olabilir.

H351: Kanserle neden olduğundan kuşulanılmaktadır.

360FD: Üremeye zarar verebilir. Doğmamış çocukta hasara yol açabilir.

H373: Yutulması halinde uzun süreli veya tekrarlı maruziyet sonucu organlarda (tiroid) hasara neden olabilir.

H412: Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle zararlıdır.

P210: Isıdan, sıcak yüzeylerden, kıvılcımlardan, açık alevlerden ve diğer tutuşturma kaynaklarından uzak tutun. Sigara içilmez.

P273: Çevreye salınmasını önleyin.

P280: Korumayı eldiven/koruyucu giysi/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P303 + P361 + P353: CİLTLE (veya saçla) TEMAS halinde: Tüm kontamine giysilerinizi hemen çıkarın. Cildinizi suyla durulayın.

P304 + P340 + P310: SOLUNMASI HALİNDE: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve rahatça nefes alabileceği bir durumda tutun. Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

P305 + P351 + P338: GÖZLE TEMASI DURUMUNDA: Birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makama bildirin.

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

	Üretici		Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın		Parti Kodu
	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci		Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi		İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı

Referanslar

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leiden 1992

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice) adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Taniya yardımcı ifadesi, kullanım amacı bölümüne aktarıldı. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler bölümü eklendi.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.