

1.01641.0001 **REF****Microscopy****Congo Red staining kit**

Kit for detection of amyloid acc. to Highman

For professional use only**IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device**Intended purpose**

This "Congo Red staining kit - Kit for the detection of amyloid acc. to Highman" is used for human-medical cell diagnosis and serves the purpose of the histological investigation of sample material of human origin. It is a ready-to-use staining kit that when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio makes target structures evaluable for diagnostic purposes (by fixing, embedding, staining, counterstaining, mounting) in histological specimen materials, for example histological sections of e.g. the kidney, the intestine, or the liver.

This Congo red staining kit - Kit for the detection of amyloid acc. to Highman contains all the reagents necessary for staining amyloid in histological tissues.

Unstained structures are relatively low in contrast and are extremely difficult to distinguish under the light microscope. The images created using the staining solutions help the authorized and qualified investigator to better define the form and structure in such cases. Further examinations may be necessary to reach a definitive diagnosis.

Principle

Amyloid is a homogenous structure made up of protein fibrils (each between 8 and 15 nm in diameter) that can be stained eosinophilically, which e.g. in the case of amyloidosis forms deposits in the intercellular space. All deposits of amyloid contain similar protein fibrils that are resistant to the body's natural defence mechanisms and that once they have formed cannot be eliminated.

The Congo red staining principle is based on the formation of hydrogen bridge bonds with the carbohydrate component of the substrate. Congo red is an anionic dye and is capable of depositing itself in amyloid fibrils, which then exhibit a conspicuous dichroism under polarized light. The tissue stained with Congo red appears orange-red under the transmitted-light microscope; under polarized light, however, the amyloid deposits show up as brilliant green double-refraction images against a dark background. Other structures also stained by Congo red, e.g. collagen, however are not visualized under polarized light.

Staining may be technically difficult when the paraffin sections used are too thin (<5 µm) or when the tissue is too strongly over-stained.

Sample material

Sections of formalin fixed, paraffin embedded tissue are used as starting material (5 - 6 µm thick paraffin sections).

Reagents

Cat. No. 1.01641.0001

Congo Red staining kit

Kit for the detection of amyloid acc. to Highman

Package components:

The staining kit contains

Reagent 1: Congo Red staining kit Congo Red solution 100 ml
Reagent 2: Congo Red staining kit KOH solution 2x 100 ml

Also required:

Cat. No. 1.05174 Hematoxylin solution modified acc. to Gill III 500 ml, 1 l, 2.5 l
for microscopy

Cat. No. 1.05175 Hematoxylin solution modified acc. to Gill II 500 ml, 2.5 l
for microscopy

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

All samples must be treated using state-of-the-art technology.

All samples must be clearly labeled.

Suitable instruments must be used for taking samples and their preparation. Follow the manufacturer's instructions for application / use.

When using the corresponding auxiliary reagents, the corresponding instructions for use must be observed.

Deparaffinize and rehydrate sections in the conventional manner.

Reagent preparation

The reagents of the Congo Red staining kit - Kit for the detection of amyloid acc. to Highman used for staining are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and their stability.

Reagent 2 (KOH solution) can still be used and provides good results, even when it has turned pink.

The already used KOH solution can be refilled into the PE bottle over a filter.

Procedure**Staining in the staining cell**

Deparaffinize histological slides in the conventional manner and rehydrate in a descending alcohol series.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps, as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

The stated times should be adhered to in order to guarantee an optimal staining result.

Slide with histological specimen	
Distilled water	1 min
Hematoxylin solution modified acc. to Gill II or Hematoxylin solution modified acc. to Gill III	5 min
Running tap water	5 min
Reagent 1 (Congo Red solution)	10 min
Running tap water	5 min
Reagent 2 (KOH solution)	30 - 40 sec
Running tap water	5 min
Ethanol 96%	30 sec
Ethanol 96%	30 sec
Ethanol 100%	1 min
Ethanol 100%	1 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Mount the Neo-Clear™-wet slides with Neo-Mount™ or the xylene-wet slides with e.g. Entellan™ new and cover glass.	

After dehydration (ascending alcohol series) and clearing with xylene or Neo-Clear™, histological samples can be mounted with water-free mounting agents (e.g. Neo-Mount™, Entellan™, DPX new or Entellan™ new) and a cover glass and can then be stored.

Result

Nuclei	dark blue
Amyloid	
in transmitted light	pink to red
in polarized light	green metachromasia
Connective tissue, collagen	light red

Trouble-shooting**Staining of the amyloid fibrils too weak**

Staining may be technically difficult above all when the paraffin sections used are too thin (<5 µm), since in such a case there is not sufficient amyloid available to take up Congo red. This can yield false-negative results. For this reason, paraffin sections >5 µm should be taken for staining.

In the event of over-intensive incubation with ethanol in the dehydration step, the Congo red dye may be washed out from the specimen tissue, resulting in the decolorization of the specimen. The dehydration times specified in the protocol should be strictly observed as a measure to prevent false-negative results.

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory. When using histoprocessors and automatic staining systems, please follow the instructions for use supplied by the supplier of the system and software.

Analytical performance characteristics

“Congo Red staining kit” stains and thereby visualizes biological structures, as described in the “Result” chapter of this IFU. The use of the product is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, histoprocessing, decisions regarding suitable controls and more.

The analytical performance of the product is confirmed by testing each production batch. The successful participation in international interlaboratory tests on a regular basis provide an additional and unaffiliated confirmation of analytical specificity.

For the following stains, the analytical performance was confirmed in terms of specificity, sensitivity and repeatability of the product with a rate of 100%:

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Congo red staining				
Nuclei	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (in transmitted light)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (in polarized light)	8/8	8/8	6/6	6/6
Connective tissue	8/8	8/8	6/6	6/6
Collagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Analytical performance results

Intra- (performed on the same batch) and inter-assay (performed on different batches) data list the number of correctly stained structures in relation to the number of performed assays.

The results of this Performance Evaluation confirms that the product is suitable for the intended use and performs reliably.

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel. Valid nomenclatures must be used. This method can be supplementarily used in human diagnostics. Further tests must be selected and implemented according to recognized methods. Suitable controls should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

In order to identify amyloid with certainty, the findings under transmitted light should always be followed by an inspection of the material under polarized light.

Storage

Store the Congo Red staining kit - Kit for the detection of amyloid acc. to Highman at +15 °C to +25 °C.

Shelf-life

The Congo Red staining kit - Kit for the detection of amyloid acc. to Highman can be used until the stated expiry date. After first opening of the bottle, the contents can be used up to the stated expiry date when stored at +15 °C to +25 °C. Reagent 2 (KOH solution) can still be used and provides good results, even when it has turned pink. The already used KOH solution can be refilled into the PE bottle over a filter. The bottles should always be kept tightly closed to avoid any evaporation of the alcohol contained and thus also prevent a rise in the concentration of the dye.

Capacity

The package is sufficient for up to 50 applications.

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only. National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.

Protection against infection

Effective measures must be taken to protect against infection in line with laboratory guidelines.

Instructions for disposal

The package must be disposed of in accordance with the current disposal guidelines. Used solutions and solutions that are past their shelf-life must be disposed of as special waste in accordance with local guidelines. Information on disposal can be obtained under the Quick Link “Hints for Disposal of Microscopy Products” at www.microscopy-products.com. Within the EU the currently applicable REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 applies.

Auxiliary reagents

Cat. No.	1.00496	Formaldehyde solution 4%, buffered, pH 6.9 (approx. 10% Formalin solution) for histology	350 ml and 700 ml (in bottle with wide neck), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Cat. No.	1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00869	Entellan™ new for cover slipper for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00974	Ethanol denatured with about 1% methyl ethyl ketone for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No.	1.05174	Hematoxylin solution modified acc. to Gill III for microscopy	500 ml, 1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.05175	Hematoxylin solution modified acc. to Gill II for microscopy	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No.	1.08298	Xylene (isomeric mixture) for histology	4 l
Cat. No.	1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml
Cat. No.	1.09843	Neo-Clear™ (xylene substitute) for microscopy	5 l
Cat. No.	1.11609	Histosec™ pastilles solidification point 56-58°C embedding agent for histology	1 kg, 10 kg (4x 2.5 kg), 25 kg
Cat. No.	1.15161	Histosec™ pastilles (without DMSO) solidification point 56-58°C embedding agent for histology	10 kg (4x 2.5 kg), 25 kg

Hazard classification

Cat. No. 1.01641.0001
Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet. The safety data sheet is available on the website and on request. CAUTION! Contains CMR substances. Please observe the corresponding safety instructions given in the safety data sheet.

Main components of the products

Cat. No.	1.01641.0001
Reagent 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l =	0.93 kg
Reagent 2	
KOH	5.69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l =	0.84 kg

General remark

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 authorised representative and to your national authority.

Literature

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage

7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Highly flammable liquid and vapor.

H290: May be corrosive to metals.

H315: Causes skin irritation.

H319: Causes serious eye irritation.

H350: May cause cancer.

P202: Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.

P233: Keep container tightly closed.

P303 + P361 + P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P308 + P313: IF exposed or concerned: Get medical advice/ attention.

Reagent 1:

H225: Highly flammable liquid and vapor.

H350: May cause cancer.

Reagent 2:

H225: Highly flammable liquid and vapor.

H290: May be corrosive to metals.

H315: Causes skin irritation.

H319: Causes serious eye irritation.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-01	Initial version with the introduction of Revision History



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Jul-01

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

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Merck and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001

REF

Mikroskopie

Kongorot Färbekit

Kit für den Nachweis von Amyloid nach Highman

Nur für professionelle Anwendung

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device

CE

Zweckbestimmung

Das vorliegende „Kongorot Färbekit - Kit für den Nachweis von Amyloid nach Highman“ wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der histologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um ein gebrauchsfertiges Farbeset, welches zusammen mit anderen *In Vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio Zielstrukturen (mittels Fixieren, Einbetten, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken) in histologischem Untersuchungsgut, wie z.B. histologischen Schnitten von z.B. Niere, Darm oder Leber, für die Diagnostik auswertbar macht.

Das vorliegende Kongorot Färbekit - Kit für den Nachweis von Amyloid nach Highman enthält alle notwendigen Reagenzien für die Färbung von Amyloid in in histologischen Geweben.

Ungefärbte Strukturen sind relativ kontrastarm und lassen sich kaum lichtmikroskopisch differenzieren. Durch die mit Hilfe der Färbelösungen erzeugten Bilder, kann die Form und Struktur durch einen autorisierten und qualifizierten Untersucher besser erkannt werden. Für eine abschließende Diagnostik können weiterführende Untersuchungen notwendig sein.

Prinzip

Amyloid ist eine aus Proteinfibrillen ($\emptyset$ je 8 - 15 nm) aufgebaute, homogene und eosinophil anfärbbare Struktur, die sich z.B. bei Amyloidose zwischen den Zellen ablagert. Alle Amyloidablagerungen enthalten ähnliche Proteinfibrillen, die gegenüber den körpereigenen Abwehrmechanismen resistent sind und nicht mehr entfernt werden können.

Die Kongorot-Färbung funktioniert auf Grundlage von Wasserstoffbrückenbindungen an die Kohlenhydratkomponente des Substrats. Kongorot ist ein anionischer Farbstoff und kann sich in Amyloid-Fibrillen einlagern, welche damit einen auffälligen Dichroismus im polarisierten Licht aufweisen. Das Kongorot-gefärbte Gewebe erscheint im Durchlicht orange-rot, bei Betrachtung im polarisierten Licht zeigen sich die Amyloid-Ablagerungen jedoch als leuchtend grüne Doppelbrechung auf dunklem Hintergrund. Andere Strukturen, die auch von Kongorot gefärbt werden, z.B. Kollagen, sind jedoch im polarisierten Licht nicht sichtbar.

Die Färbung kann technisch schwierig sein, wenn zu dünne ($<5 \mu\text{m}$) Paraffinschnitte verwendet werden oder das Gewebe zu stark überfärbt wird.

Probenmaterial

Als Ausgangsmaterial werden Schnitte von Formalin fixiertem, Paraffin eingebettetem Gewebe verwendet (5 - 6 μm dicke Paraffinschnitte).

Reagenzien

Art. 1.01641.0001
Kongorot Färbekit
Kit für den Nachweis von Amyloid nach Highman

Bestandteile der Packung:

Das Farbeset enthält

Reagenz 1: Kongorot Färbekit Kongorot-Lösung 100 ml
Reagenz 2: Kongorot Färbekit KOH-Lösung 2x 100 ml

Zusätzlich erforderlich:

Art. 1.05174 Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill III 500 ml, 1 l, 2,5 l
für die Mikroskopie

Art. 1.05175 Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill II 500 ml, 2,5 l
für die Mikroskopie

Probenvorbereitung

Die Probenentnahme darf nur durch Fachpersonal erfolgen.

Alle Proben sind entsprechend dem Stand der Technik zu behandeln.

Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen.

Geeignete Instrumente sind zur Probenentnahme und bei der Präparation zu verwenden, die Anweisungen des Herstellers für die Anwendung / den Gebrauch sind zu befolgen.

Bei Verwendung der entsprechenden Hilfsreagenzien sind die dazugehörigen Gebrauchsanweisungen zu beachten.

Schnitte in typischer Weise entparaffinieren und rehydratisieren.

Reagenzvorbereitung

Die zur Färbung verwendeten Reagenzien des Kongorot Färbekit - Kit für den Nachweis von Amyloid nach Highman sind gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösungen ist nicht notwendig, mindert das Färberegebnis und die Haltbarkeit.

Reagenz 2 (KOH-Lösung) kann, auch wenn es rosa gefärbt ist, weiterverwendet werden und liefert gute Ergebnisse.

Die bereits verwendete KOH-Lösung kann filtriert in die PE-Flasche zurückgefüllt werden.

Durchführung

Färbung in der Färbeküvette

Histologische Präparate in typischer Weise entparaffinieren und in absteigender Alkoholreihe rehydratisieren.

Die Objektträger sollten nach den einzelnen Färbeschritten gut abtropfen, so kann eine unnötige Verschleppung von Lösungen vermieden werden.

Für ein optimales Färberegebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit histologischem Präparat	
Aqua dest.	1 min
Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill II oder Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill III	5 min
Fließendes Leitungswasser	5 min
Reagenz 1 (Kongorot-Lösung)	10 min
Fließendes Leitungswasser	5 min
Reagenz 2 (KOH-Lösung)	30 - 40 sec
Fließendes Leitungswasser	5 min
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylol oder Neo-Clear™	5 min
Xylol oder Neo-Clear™	5 min
Eindecken der Neo-Clear™-feuchten Präparate mit Neo-Mount™ oder der Xylol-feuchten Präparate mit z.B. Entellan™ Neu und Deckglas.	

Histologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol oder Neo-Clear™, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. DPX Neu, Entellan™ Neu, Neo-Mount™) und Deckglas eingedeckt und gelagert werden.

Ergebnis

Zellkerne	dunkelblau
Amyloid	
im Durchlicht	rosa bis rot
im polarisiertem Licht	grüne Metachromasie
Bindegewebe, Kollagen	hellrot

Fehlerfindung

Zu schwache Färbung der Amyloid-Fibrillen

Die Färbung kann vor allem dann technisch schwierig sein, wenn zu dünne Paraffinschnitte $<5 \mu\text{m}$ verwendet werden, da nicht mehr genug Amyloid für die Einlagerung von Kongorot vorhanden ist. Dies kann zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Es sollten daher Paraffinschnitte $>5 \mu\text{m}$ angefärbt werden.

Bei zu intensiver Inkubation mit Ethanol beim Dehydrieren, kann es zum Auswaschen des Kongorot-Farbstoffs aus dem Gewebe und damit Entfärbung der Präparate kommen.

Die im Protokoll angegebenen Dehydrierungs-Zeiten sollten genau eingehalten werden, um falsch-negative Ergebnisse zu vermeiden.

Technische Hinweise

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch-diagnostischen Labors entsprechen.

Werden Histoprozessoren und Färbeautomaten verwendet, sind die Bedienungsanweisungen des Geräte- und Softwareherstellers zu beachten.

Analytische Leistung

Das vorliegende „Kongorot Färbekit“ färbt und visualisiert dadurch biologische Strukturen, wie in den Kapiteln „Ergebnis“ dieser Gebrauchsanweisung beschrieben. Die Anwendung des Produkts ist hierbei nur von autorisierten und qualifizierten Personen durchzuführen, dies umfasst, unter anderem, die Proben- und Reagenzvorbereitung, Probenbehandlung, Histoprozessing, die Entscheidung über geeignete Kontrollen und mehr.

Die analytische Leistung des Produkts wird durch die Testung jeder Produktionscharge sichergestellt. Dazu belegen die erfolgreichen Teilnahmen an internationalen Ringversuchen die analytische Spezifität regelmäßig.

Für die folgenden Färbungen wurden die analytische Leistung in Form von Spezifität, Sensitivität und Wiederholbarkeit des Produkts mit einer Rate von 100 % bestätigt:

	Inter-assay Spezifität	Inter-assay Sensitivität	Intra-assay Spezifität	Intra-assay Sensitivität
Kongorot-Färbung				
Zellkerne	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (im Durchlicht)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (im polarisiertem Licht)	8/8	8/8	6/6	6/6
Bindegewebe	8/8	8/8	6/6	6/6
Kollagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Analytische Leistungsparameter

Die Daten der Intra- (durchgeführt an derselben Charge) und Inter-Assays (durchgeführt an verschiedenen Chargen) zeigen die Anzahl der erfolgreich angefärbten Strukturen im Verhältnis zur Gesamtzahl der durchgeführten Assays.

Die Ergebnisse der Performance Evaluation belegen, dass dieses Produkt für die beschriebene Zweckbestimmung geeignet ist und verlässlich korrekte Ergebnisse liefert.

Diagnostik

Diagnosen sind nur von autorisierten und qualifizierten Personen zu erstellen. Gültige Nomenklaturen sind anzuwenden. Diese Methode ist ergänzend in der Humandiagnostik anzuwenden. Weiterführende Tests sind nach anerkannten Methoden auszuwählen und durchzuführen. Geeignete Kontrollen sollten bei jeder Anwendung mitgeführt werden, um ein fehlerhaftes Ergebnis auszuschließen.

Um Amyloid sicher zu erkennen, sollte zur Bestätigung des Befundes im Durchlicht immer die Inspektion des Materials im polarisierten Licht folgen.

Lagerung

Kongorot Färbekit - Kit für den Nachweis von Amyloid nach Highman bei +15 °C bis +25 °C lagern.

Haltbarkeit

Das Kongorot Färbekit - Kit für den Nachweis von Amyloid nach Highman kann bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

Nach dem ersten Öffnen der Flasche bei +15 °C bis +25 °C aufbewahrt bis zum Verfallsdatum verwendbar.

Reagenz 2 (KOH-Lösung) kann, auch wenn es rosa gefärbt ist, weiterverwendet werden und liefert gute Ergebnisse. Die bereits verwendete KOH-Lösung kann filtriert in die PE-Flasche zurückgefüllt werden.

Die Flaschen sind stets gut geschlossen aufzubewahren, um das Verdunsten des Alkohols und damit die Erhöhung der Farbstoffkonzentration zu vermeiden.

Kapazität

Die Packung ist für bis zu 50 Anwendungen ausreichend.

Gebrauchshinweise

Nur für professionelle Anwendung.

Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von Fachpersonal durchzuführen. Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen. Entsprechend dem Standard ausgestattete Mikroskope sind zu verwenden.

Infektionsschutz

Auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien ist unbedingt zu achten.

Entsorgungshinweise

Die Packung ist entsprechend der gültigen Entsorgungsrichtlinien zu entsorgen. Gebrauchte Lösungen und Lösungen mit abgelaufener Haltbarkeit sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen, dabei ist den lokalen Entsorgungsrichtlinien zu folgen. Hinweise zur Entsorgung können unter dem Quick Link „Entsorgungshinweise für Mikroskopie-Produkte“ auf www.Mikroskopie-Produkte.com angefordert werden. Innerhalb der EU gilt die VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG), Nr. 1907/2006.

Hilfsreagenzien

Art.	1.00496	Formaldehydlösung 4%, gepuffert, pH 6,9 (ca. 10% Formalinlösung) für die Histologie	350 ml und 700 ml (in Weithalsflasche), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Art.	1.00579	DPX Neu wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml
Art.	1.00869	Entellan™ Neu für Eindeckautomaten für die Mikroskopie	500 ml
Art.	1.00974	Ethanol vergällt mit ca. 1 % Ethylmethylketon zur Analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art.	1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropfflasche, 100 ml, 500 ml
Art.	1.05174	Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill III für die Mikroskopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art.	1.05175	Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill II für die Mikroskopie	500 ml, 2,5 l
Art.	1.07961	Entellan™ Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art.	1.08298	Xylol (Isomeregemisch) für die Histologie	4 l
Art.	1.09016	Neo-Mount™ wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	100-ml-Tropfflasche, 500 ml
Art.	1.09843	Neo-Clear™ (Xylol-Ersatz) für die Mikroskopie	5 l
Art.	1.11609	Histosec™ Pastillen Erstarrungspunkt 56-58°C Einbettungsmittel für die Histologie	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art.	1.15161	Histosec™ Pastillen (ohne DMSO) Erstarrungspunkt 56-58°C Einbettungsmittel für die Histologie	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg

GefahrstoffEinstufung

Art. 1.01641.0001
Die GefahrstoffEinstufung auf dem Etikett und die Angaben im Sicherheitsdatenblatt sind zu beachten. Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage. ACHTUNG! Enthält CMR-Substanzen. Bitte entsprechende Sicherheitshinweise im Sicherheitsdatenblatt beachten.

Hauptbestandteile der Produkte

Art.	1.01641.0001
Reagenz 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l =	0,93 kg
Reagenz 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l =	0,84 kg

Allgemeiner Hinweis

Wenn während oder infolge des Gebrauchs ein schwerwiegender Vorfall aufgetreten ist, melden Sie diesen bitte dem Hersteller und / oder seinem Bevollmächtigten und Ihrer nationalen Behörde.

Literatur

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H315: Verursacht Hautreizungen.

H319: Verursacht schwere Augenreizung.

H350: Kann Krebs erzeugen.

P202: Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.

P210: Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.

P233: Behälter dicht verschlossen halten.

P303 + P360 + P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen.

P305 + P351 + P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P308 + P313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Reagenz 1:

H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H350: Kann Krebs erzeugen.

Reagenz 2:

H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H315: Verursacht Hautreizungen.

H319: Verursacht schwere Augenreizung.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-01	Erste Version mit der Einführung der Revisionshistorie



Gebrauchsanweisung
beachten



Hersteller



Katalognummer



Chargen-
code



Achtung, Begleitdoku-
mentation beachten



Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT



Temperatur-
begrenzung

Status: 2024-Jul-01

Der Unternehmensbereich Life Science von Merck tritt in den USA und in Kanada als MilliporeSigma auf.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland und/oder Tochterunternehmen. Alle Rechte vorbehalten. Merck und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland. Alle anderen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen zu Markennamen sind über öffentlich zugängliche Informationsquellen erhältlich.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001 **REF****Microscopie****Kit de coloration Rouge Congo**

Kit pour la mise en évidence de l'amyloïde selon Highman

Réservé à une utilisation professionnelleDispositif médical de diagnostic *in vitro***Objectif prévu**

Le présent « Kit de coloration Rouge Congo - Kit pour la mise en évidence de l'amyloïde selon Highman » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen histologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un kit de coloration prêt à l'emploi, qui est utilisé conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures cibles analysables pour le diagnostic (par fixation, inclusion, coloration, contre-coloration, montage) dans des épreuves histologiques, telles que les coupes histologiques de rein, intestin, foie, p.ex.

Le présent Kit de coloration Rouge Congo - Kit pour la mise en évidence de l'amyloïde selon Highman contient tous les réactifs nécessaires à la coloration de l'amyloïde dans les tissus histologiques.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il peut être nécessaire d'exécuter des examens supplémentaires.

Principe

L'amyloïde est une structure homogène et apte à être colorée de manière éosinophile, constituée de fibrilles protéiques ($\varnothing$ de 8 - 15 nm chacune), qui se dépose entre les cellules, par exemple dans le cas de l'amylose. Tous les dépôts d'amyloïdes contiennent des fibrilles protéiques analogues qui résistent aux mécanismes de défense immunitaire de l'organisme et ne peuvent plus être enlevées.

La coloration au rouge Congo fonctionne sur la base de liaisons hydrogènes au composant d'hydrate de carbone du substrat. Le rouge Congo est un colorant anionique pouvant se déposer dans les fibrilles amyloïdes qui présentent ainsi un dichroïsme visible dans la lumière polarisée. Le tissu coloré au rouge Congo apparaît en rouge orangé à la lumière transmise mais à la lumière polarisée les dépôts amyloïdes se présentent comme une biréfringence en vert vif sur fond sombre. Par contre, d'autres structures également colorées au rouge Congo, telles que le collagène, ne sont pas visibles à la lumière polarisée.

La coloration peut être difficile du point de vue technique si les coupes de paraffine utilisées sont trop fines ou si le tissu est recoloré trop fortement.

Matériel d'échantillons

Des coupes de tissu fixé à la formaline et inclus en paraffine sont utilisés comme matériel de départ (coupes de paraffine de 5 à 6 μ m d'épaisseur).

Réactifs

Art. 1.01641.0001

Kit de coloration Rouge Congo

Kit pour la mise en évidence de l'amyloïde selon Highman

Composition d'emballage :

Le kit de coloration contient

Réactif 1 : Kit de coloration Rouge Congo Solution de Rouge Congo 100 ml

Réactif 2 : Kit de coloration Rouge Congo Solution de KOH 2x 100 ml

Nécessaire en plus :

Art. 1.05174 Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III 500 ml, 1 l, 2,5 l pour la microscopie

Art. 1.05175 Hématoxyline en solution modifiée selon Gill II 500 ml, 2,5 l pour la microscopie

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié.

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés.

Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Lors de l'utilisation des réactifs auxiliaires adéquats, il y a lieu de respecter les consignes d'utilisation correspondantes.

Déparaffiner et réhydrater les coupes de la manière habituelle.

Préparation du réactif

Les réactifs de Kit de coloration Rouge Congo - Kit pour la mise en évidence de l'amyloïde selon Highman utilisés pour colorer sont prêts à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Le Réactif 2 (solution de KOH) peut encore être utilisé et donné de bons résultats même s'il est teinté en rose.

La solution de KOH déjà utilisée peut être remise dans le flacon de PE après l'avoir filtrée.

Mode opératoire**Coloration dans la cuve de coloration**

Déparaffiner les préparations histologiques de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec préparation histologique	
Eau distillée	1 minute
Solution d'hématoxyline modifiée selon Gill II ou Solution d'hématoxyline modifiée selon Gill III	5 minutes
Eau du robinet courante	5 minutes
Réactif 1 (solution de Rouge Congo)	10 minutes
Eau du robinet courante	5 minutes
Réactif 2 (solution de KOH)	30 - 40 secondes
Eau du robinet courante	5 minutes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 100 %	1 minute
Ethanol 100 %	1 minute
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Monter les préparations humides de Neo-Clear™ avec le Neo-Mount™ ou les préparations humides de xylène avec p.ex. l'Entellan™ néo et couvre-objet.	

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du Neo-Clear™, les préparations histologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p.ex. Neo-Mount™, Entellan™, DPX néo ou Entellan™ néo) et une lamelle couvre-objet et être conservée.

Résultat

Noyaux cellulaires	bleu foncé
Amyloïde en lumière transmise dans la lumière polarisée	rose à rouge métachromasie verte
Tissus conjonctifs, collagène	rouge clair

Diagnostic d'erreurs**Coloration trop faible des fibrilles amyloïdes**

La coloration peut avant tout s'avérer difficile du point de vue technique si des coupes de paraffine de moins de 5 μ m sont utilisées, puisqu'il n'y a plus assez d'amyloïde pour intercaler le rouge Congo. Ceci peut fournir des résultats faussement négatifs. Il conviendrait donc de colorer des coupes de paraffine de plus de 5 μ m.

En cas d'incubation trop intensive à l'éthanol pour la déshydratation, il se peut que le colorant rouge Congo disparaisse du tissu au lavage et que la préparation soit décolorée.

Les temps de déshydratation indiqués au procès-verbal devraient être respectés avec précision pour éviter les résultats faussement négatifs.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux.

En cas d'utilisation d'un processeur d'histologie et d'un automate de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l'appareil et du logiciel.

FR

Caractéristiques de performance analytique

« Kit de coloration Rouge Congo » colore et permet donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans le chapitre « Résultat » de ce mode d'emploi. Ce produit ne doit être utilisé que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, le traitement histologique (histoprocessing), la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique du produit est confirmée via l'analyse de chaque lot de production. La participation réussie à des tests interlaboratoires internationaux réguliers est une confirmation supplémentaire et indépendante de la spécificité analytique.

Pour les colorants suivants, la performance analytique a été confirmée au niveau des spécificité, sensibilité et répétabilité du produit avec un taux de 100 % :

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration au rouge Congo				
Noyaux cellulaires	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloïde (en lumière transmise)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloïde (dans la lumière polarisée)	8/8	8/8	6/6	6/6
Tissus conjonctifs	8/8	8/8	6/6	6/6
Collagène	8/8	8/8	6/6	6/6

Résultats de la performance analytique

Les données des essais intra-lot (au sein du même lot) et inter-lot (sur différents lots) répertorient le nombre de structures dont la coloration est appropriée en relation avec le nombre d'essais effectués.

Les résultats de cette évaluation de performance confirment que le produit est approprié à l'usage prévu et peut être utilisé de manière fiable.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et qualifiées.
Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.
Cette méthode doit être appliquée dans le diagnostic humain à titre complémentaire.
Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.
Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné.
Pour identifier l'amyloïde avec certitude, il faut toujours effectuer une vérification à la lumière polarisée pour confirmer le résultat obtenu en lumière transmise.

Stockage

Stocker le Kit de coloration Rouge Congo - Kit pour la mise en évidence de l'amyloïde selon Highman entre +15 °C et +25 °C.

Stabilité

Le Kit de coloration Rouge Congo - Kit pour la mise en évidence de l'amyloïde selon Highman peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée.
Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.
Le Réactif 2 (solution de KOH) peut encore être utilisé et donné de bons résultats même s'il est teinté en rose.
La solution de KOH déjà utilisée peut être remise dans le flacon de PE après l'avoir filtrée.
Les flacons doivent toujours être conservées bien fermées pour éviter que l'alcool s'évapore et par conséquent la concentration du colorant augmente.

Capacité

L'emballage suffit jusqu'à 50 applications.

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.
Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié.
Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.
Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.
Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com.
Au sein de l'UE s'applique le règlement CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art.	1.00496	Formaldéhyde en solution à 4%, tamponée, pH 6,9 (formaline en solution à env. 10%), pour l'histologie	350 ml et 700 ml (en flacon à col large), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Art.	1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art.	1.00869	Neo-Entellan™ pour colleuse de lamelles pour la microscopie	500 ml
Art.	1.00974	Ethanol dénaturé avec env. 1 % d'éthylméthylcétone pour analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art.	1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art.	1.05174	Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III pour la microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art.	1.05175	Hématoxyline en solution modifiée selon Gill II pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
Art.	1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art.	1.08298	Xylène (mélange isomérique) pour l'histologie	4 l
Art.	1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art.	1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art.	1.11609	Histosec™ en pastilles P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art.	1.15161	Histosec™ en pastilles (sans DMSO) P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg

Classification des matières dangereuses

Art. 1.01641.0001
Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.
La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.
ATTENTION : contient des substances CMR. Veuillez respecter les consignes de sécurité dans la fiche de sécurité correspondante s.v.p.

Composants principaux des produits

Art.	1.01641.0001
Réactif 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l =	0,93 kg
Réactif 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l =	0,84 kg

Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition

8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition

9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H290 : Peut être corrosif pour les métaux.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

H350 : Peut provoquer le cancer.

P202 : Ne pas manipuler avant d’avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

P210 : Tenir à l’écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d’inflammation. Ne pas fumer.

P233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche.

P303 + P360 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l’eau.

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.

P308 + P313 : EN CAS d’exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin.

Réactif 1 :

H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H350 : Peut provoquer le cancer.

Réactif 2 :

H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H290 : Peut être corrosif pour les métaux.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-01	Version initiale avec l’introduction de l’historique des révisions

Respectez les consignes d’utilisation

Fabricant

N° catalogue

Code de lot

Attention : observez la documentation complémentaire

Utilisable jusqu’au AAAA-MM-JJ

Limitation de température

Status: 2024-Jul-01

Aux États-Unis et au Canada, l’activité Life Science de Merck opère sous le nom de MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés. Merck et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne. Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs. Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.

1.01641.0001

REF

Microscopía

Kit de tinción Rojo Congo

kit para identificación de amiloide según Highman

Solamente para uso profesional

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

CE

Finalidad prevista

El presente "Kit de tinción Rojo Congo - kit para identificación de amiloide según Highman" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplea en el examen histológico de muestras de origen humano. Se trata de un kit de tinción listo para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *in vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (mediante fijación, inclusión, tinción, contratinción, montaje) en material de examen histológico, como pueden ser cortes histológicos p.ej. del riñón, del intestino o del hígado.

El presente Kit de tinción de Rojo Congo - kit para identificación de amiloide según Highman contiene todos los reactivos necesarios para la tinción de amiloide en tejidos histológicos.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Tal vez se requieren exámenes más complejos para un diagnóstico final.

Principio

El amiloide es una estructura compuesta de fibrillas proteicas ($\varnothing$ 8 - 15 nm cada una), homogénea y teñible de forma eosinófila que se deposita entre las células p.ej. en caso de amiloidosis. Todos los depósitos de amiloide contienen fibrillas proteicas parecidas que son resistentes a los mecanismos de defensa del organismo y que no pueden ser eliminadas.

La tinción de Rojo Congo se realiza sobre la base de enlaces por puente de hidrógeno con el componente de carbohidrato del sustrato. El Rojo Congo es un colorante aniónico y puede depositarse en fibrillas de amiloide, las cuales presentarán en este caso un destacado dicroísmo bajo luz polarizada. Al trasluz, el tejido teñido con Rojo Congo aparece en color naranja-rojo, mientras que si se mira bajo luz polarizada, los depósitos de amiloide se presentan en forma de doble refracción de color verde intenso sobre fondo oscuro. Sin embargo, otras estructuras, que también son teñidas por el Rojo Congo, p.ej. el colágeno, no son visibles en luz polarizada.

La tinción puede ser técnicamente difícil si se utilizan cortes de parafina demasiado finos ($<5 \mu\text{m}$) o si el tejido ha sido sometido a una sobretinción excesiva.

Material de las muestras

Como material de partida se emplean cortes de tejido fijado en formalina e incluido en parafina (cortes paraafínicos de 5 - 6 μm de espesor).

Reactivos

Art. 1.01641.0001
Kit de tinción Rojo Congo
kit para identificación de amiloide según Highman

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1: Kit de tinción Rojo Congo Solución de Rojo Congo 100 ml
Reactivo 2: Kit de tinción Rojo Congo Solución de KOH 2x 100 ml

Necesario además:

Art. 1.05174 Hematoxilina en solución modificada según Gill III para microscopía 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.05175 Hematoxilina en solución modificada según Gill II para microscopía 500 ml, 2,5 l

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente. Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Desparafinar de forma típica los cortes y rehidratar.

Preparación del reactivo

Los reactivos del Kit de tinción Rojo Congo - kit para identificación de amiloide según Highman utilizados para los procesos de tinción están listos para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

El Reactivo 2 (solución de KOH) puede continuar empleándose y suministro buenos resultados aunque muestre color rosa. Una vez filtrada, la solución KOH ya utilizada podrá ser devuelta al frasco de PE.

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

Desparafinar de forma habitual los preparados histológicos y rehidratar en serie descendente de alcohol.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los períodos indicados.

Portaobjetos con preparado histológico	
Agua destilada	1 minuto
Solución de hematoxilina modificada según Gill II o Solución de hematoxilina modificada según Gill III	5 minutos
Agua corriente del grifo	5 minutos
Reactivo 1 (solución de Rojo Congo)	10 minutos
Agua corriente del grifo	5 minutos
Reactivo 2 (solución de KOH)	30 - 40 segundos
Agua corriente del grifo	5 minutos
Etol 96 %	30 segundos
Etol 96 %	30 segundos
Etol 100 %	1 minuto
Etol 100 %	1 minuto
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Montar con Neo-Mount™ los preparados humedecidos con Neo-Clear™, o los preparados humedecidos con xileno con p.ej. Entellan™ Nuevo y cubre-objetos.	

Los preparados histológicos pueden ser montados y almacenados con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount™, Entellan™, DPX nuevo o Entellan™ Nuevo) y cubreobjetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear™.

Resultado

Núcleos celulares	azul oscuro
Amiloide al trasluz bajo luz polarizada	rosa a rojo metacromasia verde
T Tejido conjuntivo, colágeno	rojo claro

Localización de errores

Tinción demasiado débil de las fibrillas de amiloide

La tinción puede ser técnicamente difícil sobre todo si se utilizan cortes de parafina demasiado finos $<5 \mu\text{m}$, porque en este caso ya no quedará suficiente amiloide para que se deposite el Rojo Congo. Esta circunstancia podrá causar resultados erróneamente negativos. Por esto, siempre se deberían teñir cortes de parafina $>5 \mu\text{m}$.

En caso de realizarse durante la deshidratación una incubación demasiado intensa con etanol, el colorante Rojo Congo podrá ser eliminado del tejido por efectos de lavado, dándose lugar a una descoloración de los preparados. Los tiempos de deshidratación indicados en el protocolo deberían ser respetados con exactitud para evitar de esta manera resultados erróneamente negativos.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Si se utilizan procesadores de histología y aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software.

Características de rendimiento analítico

“Kit de tinción Rojo Congo” tiñe y, por lo tanto, visualiza estructuras biológicas, como se describe en el capítulo “Resultado” de estas instrucciones de uso. Solo deben utilizar el producto personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, el procesamiento histológico, las decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico del producto se confirma analizando cada lote de producción. La participación satisfactoria en análisis interlaboratorios internacionales periódicos proporciona una confirmación adicional e independiente de la especificidad analítica.

En el caso de las siguientes tinciones, se confirmó el rendimiento analítico en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %:

	Especificidad inter-ensayos	Especificidad inter-ensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción de Rojo Congo				
Núcleos celulares	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloide (al trasluz)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloide (bajo luz polarizada)	8/8	8/8	6/6	6/6
Tejido conjuntivo	8/8	8/8	6/6	6/6
Colágeno	8/8	8/8	6/6	6/6

Resultados de rendimiento analítico

Los datos intraensayos (realizados en el mismo lote) e interensayos (realizados en diferentes lotes) enumeran las estructuras correctamente teñidas en relación con el número de ensayos realizados.

Los resultados de esta evaluación de rendimiento confirman la aptitud del producto para el uso previsto, así como su fiabilidad de funcionamiento.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.

Deberán emplearse terminologías vigentes. Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos. Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos. Para reconocer la amiloide con seguridad, para confirmar el hallazgo al trasluz debería seguir siempre la inspección del material bajo luz polarizada.

Almacenamiento

Guardar el Kit de tinción Rojo Congo - kit para identificación de amiloide según Highman de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El Kit de tinción Rojo Congo - kit para identificación de amiloide según Highman puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada. Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada. El Reactivo 2 (solución de KOH) puede continuar empleándose y suministro buenos resultados aunque muestre color rosa. Una vez filtrada, la solución KOH ya utilizada podrá ser devuelta al frasco de PE. Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados para evitar de esta manera que se evapore el alcohol y que, debido a ello, aumente la concentración del colorante.

Capacidad

El envase es suficiente para hasta 50 aplicaciones.

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional. Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado. Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad. Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos. Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link “Hints for Disposal of Microscopy Products” en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) Nº 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) Nº 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 1.00496	Formaldehído en solución 4%, tamponado, pH 6,9 (aprox. 10% de formalina en solución) para histología	350 ml y 700 ml (en frasco de cuello ancho), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Art. 1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 1.00869	Entellan™ nuevo para montadores de cubreobjetos para microscopía	500 ml
Art. 1.00974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.05174	Hematoxilina en solución modificada según Gill III para microscopía	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.05175	Hematoxilina en solución modificada según Gill II para microscopía	500 ml, 2,5 l
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l
Art. 1.11609	Histosec™ pastillas punto de solidificación 56-58°C medio de inclusión para histología	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art. 1.15161	Histosec™ pastillas (sin DMSO) punto de solidificación 56-58°C, medio de inclusión para histología	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.01641.0001
Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad. La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud. ¡ATENCIÓN! Contiene sustancias CMR. Por favor, respete los avisos de seguridad correspondientes en la ficha de datos de seguridad.

Componentes principales de los productos

Art. 1.01641.0001		
Reactivo 1		
C.I. 22120	10 g/l	
C ₂ H ₅ OH	390 g/l	
1 l =	0,93 kg	
Reactivo 2		
KOH	5,69 g/l	
C ₂ H ₅ OH	749 g/l	
1 l =	0,84 kg	

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition

8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition

9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H290: Puede ser corrosivo para los metales.

H315: Provoca irritación cutánea.

H319: Provoca irritación ocular grave.

H350: Puede provocar cáncer.

P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado.

P303 + P360 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P308 + P313: EN CASO DE exposición demostrada o supuesta: consultar a un médico.

Reactivo 1:

H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H350: Puede provocar cáncer.

Reactivo 2:

H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H290: Puede ser corrosivo para los metales.

H315: Provoca irritación cutánea.

H319: Provoca irritación ocular grave.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-01	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones

Observe las instrucciones de uso

Fabricante

Número de catálogo

Código del lote

Atención, observar la documentación pertinente

Utilizable hasta AAAA-MM-DD

Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Jul-01

1.01641.0001 **REF****Microscopia****Kit di colorazione Rosso Congo**

Kit per la rilevazione di amiloide secondo il metodo di Highman

Solo per uso professionale**IVD** Dispositivo medico-diagnostico *in vitro***Scopo previsto**

Il presente "Kit di colorazione Rosso Congo - Kit per la rilevazione di amiloide secondo il metodo di Highman" è utilizzato per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame istologico di campioni di origine umana. È un kit di colorazione pronto all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *in vitro* del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio (mediante fissaggio, inclusione, colorazione, contro-colorazione, montaggio) nei campioni istologici, quali ad esempio sezioni istologiche di rene, intestino, fegato.

Il presente Kit di colorazione Rosso Congo - Kit per la rilevazione di amiloide secondo il metodo di Highman contiene tutti i reattivi necessari per la colorazione di amiloide in tessuti istologici.

Le strutture non colorate presentano un contrasto relativamente poco marcato e sono difficili da distinguere al microscopio ottico. In virtù delle immagini ottenute con le soluzioni di colorazione, il ricercatore autorizzato e qualificato è in grado di distinguere in modo più preciso la forma e la struttura. Per una diagnosi definitiva potrebbe essere necessario eseguire ulteriori esami.

Principio

L'amiloide è una struttura omogenea e con tintorialità eosinofila, costituita da fibrille proteiche (ciascuna con Ø di 8 - 15 nm) che per esempio in caso di amiloidosi si deposita tra le cellule. Tutti i depositi di amiloide contengono fibrille proteiche simili che sono resistenti ai meccanismi di difesa endogeni e non possono più essere rimosse.

La colorazione Rosso Congo funziona in base a legami per mezzo di ponti idrogeno con i componenti polisaccaridici del substrato. Rosso Congo è un colorante anionico e può depositarsi nelle fibrille di amiloide che all'esame in luce polarizzata presenteranno quindi una marcata birifrangenza. Il tessuto colorato con Rosso Congo appare in trasparenza di colore rosso-arancio mentre se osservati al microscopio a luce polarizzata i depositi di amiloide presenteranno una birifrangenza verde fosforescente su di uno sfondo scuro. Altre strutture, che vengono comunque colorate con Rosso Congo, come per esempio il collagene, non sono tuttavia visibili all'esame in luce polarizzata.

La colorazione può risultare tecnicamente difficile qualora vengano utilizzate delle sezioni di paraffina troppo sottili (<5 µm) o si proceda a un'eccessiva sovracolorazione del tessuto.

Materiale d'esame

Come materiale iniziale vengono utilizzate sezioni incluse in paraffina e fissate in formalina (sezioni in paraffina con spessore di 5 - 6 µm).

Reattivi

Art. 1.01641.0001

Kit di colorazione Rosso Congo

Kit per la rilevazione di amiloide secondo il metodo di Highman

Componenti della confezione:

Il kit di colorazione contiene

Reattivo 1: Kit di colorazione Rosso Congo Soluzione Rosso Congo 100 ml
 Reattivo 2: Kit di colorazione Rosso Congo Soluzione KOH 2x 100 ml

Inoltre necessario:

Art. 1.05174 Ematossilina soluzione modificata secondo Gill III 500 ml, 1 l, 2,5 l
 per microscopia

Art. 1.05175 Ematossilina soluzione modificata secondo Gill II 500 ml, 2,5 l
 per microscopia

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente.

Tutti i campioni vanno contrassegnati in modo tale da essere facilmente identificati.

Devono essere utilizzati strumenti adatti per il prelievo e la preparazione dei campioni; vanno osservate rigorosamente le indicazioni del produttore circa l'applicazione e le istruzioni d'uso.

Quando si utilizzano i reattivi ausiliari corrispondenti, osservare le relative istruzioni per l'uso.

Sparaffinare e portare le sezioni all'acqua secondo la procedura standard.

Preparazione del reattivo

I reattivi di Kit di colorazione Rosso Congo - Kit per la rilevazione di amiloide secondo il metodo di Highman utilizzati per la colorazione sono pronti all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità.

Si può continuare ad utilizzare il Reattivo 2 (soluzione di KOH) anche se assume una colorazione rosa, senza che i risultati vengano compromessi. La soluzione di KOH utilizzata può, una volta filtrata, essere anche rimessa nei flaconi di PE.

Esecuzione**Colorazione nella cuvetta di colorazione**

Sparaffinare e riportare le preparati istologici all'acqua attraverso una serie discendente di alcoli come di consueto.

I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinamento (carry-over) delle soluzioni.

Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con preparato istologico	
Acqua distillata	1 minuto
Soluzione d'ematossilina modificata secondo Gill II o Soluzione d'ematossilina modificata secondo Gill III	5 minuti
Acqua di rubinetto corrente	5 minuti
Reattivo 1 (soluzione Rosso Congo)	10 minuti
Acqua di rubinetto corrente	5 minuti
Reattivo 2 (soluzione KOH)	30 - 40 secondi
Acqua di rubinetto corrente	5 minuti
Etanolo 96 %	30 secondi
Etanolo 96 %	30 secondi
Etanolo 100 %	1 minuto
Etanolo 100 %	1 minuto
Xilene o Neo-Clear™	5 minuti
Xilene o Neo-Clear™	5 minuti
Montare i preparati inumiditi con Neo-Clear™ con Neo-Mount™ o i preparati inumiditi con xilene con per es. Entellan™ Neo e coprioggetto.	

Dopo la disidratazione (con serie alcolica a concentrazione ascendente) i preparati istologici possono essere chiarificati con xilene o Neo-Clear™, montati con mezzi di montaggio anidri (per esempio, Neo-Mount™, Entellan™, DPX Neo o Entellan™ Neo), coperti con un vetrino coprioggetti e conservati.

Risultato

Nuclei cellulari	blu scuro
Amiloide in trasparenza in luce polarizzata	da rosa a rosso metacromasia verde
Tessuti connettivi, collagene	rosso chiaro

Individuazione e soluzione di problemi**Colorazione troppo debole delle fibrille di amiloide**

La colorazione può presentare delle difficoltà tecniche soprattutto se vengono utilizzate delle sezioni di paraffina troppo sottili <5 µm poiché in tal caso l'amiloide da sottoporre a colorazione con Rosso Congo non sarà più sufficiente. Si possono ottenere dei risultati falsi negativi. Si raccomanda pertanto di sottoporre a colorazione sezioni di paraffina >5 µm.

In caso di incubazione troppo intensa con etanolo durante la fase di disidratazione, può succedere che il colorante Rosso Congo venga lavato via dal tessuto con conseguente decolorazione dei preparati. Attenersi scrupolosamente ai tempi di disidratazione indicati nel protocollo onde evitare risultati falsi negativi.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico.

In caso di utilizzate processore d'istologia o di colorazione automatizzata, attenersi alle istruzioni per l'uso del produttore dello strumento e del software.

Caratteristiche delle prestazioni analitiche

„Kit di colorazione Rosso Congo” colora e pertanto permette di visualizzare strutture biologiche, come descritto nel capitolo „Risultato” di questa IFU. Il prodotto deve essere utilizzato solo da persone autorizzate e qualificate; ciò include, a titolo esemplificativo, la preparazione del campione e del reagente, la manipolazione del campione, l’istoprocessazione, le decisioni relative ai controlli adeguati, ecc.

Le prestazioni analitiche del prodotto sono confermate per mezzo di test su ciascun lotto di produzione. La fruttuosa partecipazione a test interlaboratorio internazionali su base regolare fornisce una conferma aggiuntiva e indipendente della specificità analitica.

Per le seguenti colorazioni, le prestazioni analitiche sono state confermate in termini di specificità, sensibilità e ripetibilità del prodotto con un tasso del 100 %:

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione Rosso Congo				
Nuclei cellulari	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloide (in trasparenza)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloide (in luce polarizzata)	8/8	8/8	6/6	6/6
Tessuti connettivi	8/8	8/8	6/6	6/6
Collagene	8/8	8/8	6/6	6/6

Risultati delle prestazioni analitiche

I dati intrasaggio (eseguiti sullo stesso lotto) e intersaggio (eseguiti su lotti diversi) elencano il numero di strutture correttamente colorate in relazione al numero di saggi eseguiti.

I risultati di questa valutazione delle prestazioni confermano che il prodotto è adatto all’uso previsto e funziona in modo affidabile.

Diagnostica

Le diagnosi vanno eseguite solo da personale autorizzato e qualificato. Devono essere utilizzate nomenclature valide. La presente metodologia deve essere utilizzata quale strumento integrativo per la diagnostica umana. Ulteriori test vanno scelti ed eseguiti secondo metodi riconosciuti. Per ogni applicazione devono essere eseguiti controlli appropriati, per escludere possibili risultati errati.

Per riconoscere con sicurezza l’amiloide, il materiale dovrebbe essere sempre esaminato dapprima in trasparenza ed in seguito in luce polarizzata, per confermare l’esito.

Conservazione

Il Kit di colorazione Rosso Congo - Kit per la rilevazione di amiloide secondo il metodo di Highman va conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Stabilità

Il Kit di colorazione Rosso Congo - Kit per la rilevazione di amiloide secondo il metodo di Highman può essere utilizzato entro la data di scadenza indicata. Una volta aperto il flacone, il contenuto si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata se conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Si può continuare ad utilizzare il Reattivo 2 (soluzione di KOH) anche se assume una colorazione rosa, senza che i risultati vengano compromessi. La soluzione di KOH utilizzata può, una volta filtrata, essere anche rimessa nei flaconi de PE.

Conservare sempre i flaconi ben chiusi per evitare l’evaporazione dell’alcol e il conseguente aumento della concentrazione del colorante.

Capacità

La confezione è sufficiente per un massimo de 50 applicazioni.

Istruzioni per l’uso

Solo per uso professionale.
Per evitare errori, la applicazione deve essere eseguita da personale specializzato. Vanno osservate le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e di assicurazione di qualità. Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti.

Protezione contro le infezioni

Vanno rigorosamente osservate le norme di laboratorio relative alla protezione contro le infezioni.

Istruzioni per lo smaltimento

La confezione deve essere smaltita nel rispetto delle vigenti direttive in materia. Le soluzioni usate e le soluzioni scadute vanno smaltite come rifiuti pericolosi, in conformità alle disposizioni locali vigenti in materia di smaltimento dei rifiuti. Per richiedere informazioni sullo smaltimento selezionare il Quick link “Hints for Disposal of Microscopy Products” all’indirizzo www.microscopy-products.com. Nell’Unione europea trova applicazione il Regolamento (CE) n. 1272/2008 relativo alla classificazione, all’etichettatura e all’imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.

Reattivi ausiliari

Art.	1.00496	Aldeide formica soluzione al 4%, tamponata, pH 6,9 (formalina soluzione ca. 10%), per istologia	350 ml e 700 ml (in flacone a collo largo), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Art.	1.00579	DPX Neo mezzo di montaggio anidro per microscopia	500 ml
Art.	1.00869	Nuovo Entellan™ montante per vetrini per microscopia	500 ml
Art.	1.00974	Etanolo denaturato con circa 1 % di metiletilchetone p. a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art.	1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art.	1.05174	Ematossilina soluzione modificata secondo Gill III per microscopia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art.	1.05175	Ematossilina soluzione modificata secondo Gill II per microscopia	500 ml, 2,5 l
Art.	1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Art.	1.08298	Xilene (miscela di isomeri) per istologia	4 l
Art.	1.09016	Neo-Mount™ mezzo di montaggio anidro per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 500 ml
Art.	1.09843	Neo-Clear™ (sostituto xilolo) per microscopia	5 l
Art.	1.11609	Histosec™ in pastiglie p.s. 56-58°C mezzo d’inclusione per istologia	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art.	1.15161	Histosec™ in pastiglie (senza DMSO) p.s. 56-58°C mezzo d’inclusione per istologia	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.01641.0001
Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull’etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza. La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta. **ATTENZIONE!** Contiene sostanze CMR. Attenersi alle relative indicazioni di sicurezza riportate nella scheda di dati di sicurezza.

Componenti principali dei prodotti

Art.	1.01641.0001
Reattivo 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l =	0,93 kg
Reattivo 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l =	0,84 kg

Indicazione generale

Se durante o in seguito all’uso del dispositivo si verifica un incidente, segnalare l’evento al fabbricante e/o al suo mandatario e alle autorità nazionali.

Letteratura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.
H290: Può essere corrosivo per i metalli.
H315: Provoca irritazione cutanea.
H319: Provoca grave irritazione oculare.
H350: Può provocare il cancro.

P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.
P233: Tenere il recipiente ben chiuso.

P303 + P360 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sциaquare la pelle.
P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P308 + P313: IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

Reattivo 1:
H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.
H350: Può provocare il cancro.

Reattivo 2:
H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.
H290: Può essere corrosivo per i metalli.
H315: Provoca irritazione cutanea.
H319: Provoca grave irritazione oculare.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-01	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni

Attenersi alle istruzioni per l'uso

Fabbricante

N. di catalogo

Codice del lotto

Attenzione, consultare la documentazione di accompagnamento

Data di scadenza
AAAA-MM-GG

Limiti di temperatura

Status: 2024-Jul-01

1.01641.0001

REF

Μικροσκοπία**Κιτ χρώσης Congo Red**

για την ανίχνευση αμυλοειδούς κατά Highman

Για επαγγελματική χρήση μόνο

IVD

In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

CE

Προβλεπόμενος σκοπός

Το «Κιτ χρώσης Congo Red – για την ανίχνευση αμυλοειδούς κατά Highman» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και εξυπηρετεί τον σκοπό της ιστολογικής διερεύνησης υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για ένα έτοιμο για χρήση κιτ χρώσης που, όταν χρησιμοποιείται μαζί με άλλα *in vitro* διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνει τις δομές στόχους σε υλικά ιστολογικών δειγμάτων (π.χ. ιστολογικές τομές όπως του νεφρού, του εντέρου ή του ήπατος) αξιολογήσιμες για διαγνωστικούς σκοπούς (μέσω μονιμοποίησης, έγκλεισης, χρώσης, αντιχρώσης και στερέωσης).

Το Κιτ χρώσης Congo Red – για την ανίχνευση αμυλοειδούς κατά Highman περιέχει όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για τη χρώση αμυλοειδών σε ιστολογικό υλικό.

Οι άβαφες βακτηριακές δομές παρουσιάζουν σχετικά χαμηλή αντίθεση και είναι εξαιρετικά δύσκολη η διάκρισή τους με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι εικόνες που δημιουργούνται χρησιμοποιώντας τα διαλύματα χρώσης βοηθούν τον εξουσιοδοτημένο και εξειδικευμένο ερευνητή να προσδιορίσει καλύτερα τον τύπο και το βακτήριο σε αυτές τις περιπτώσεις. Ενδέχεται να είναι απαραίτητη η διενέργεια επιπλέον εξετάσεων για την οριστική διάγνωση.

Αρχή της μεθόδου

Το αμυλοειδές είναι μια ομοιογενής δομή που αποτελείται από πρωτεϊνικά ινίδια (έκαστο μεταξύ 8 και 15 nm σε διάμετρο) που μπορεί να χρωσθεί ηωσινοφιλικά και που στην περίπτωση π.χ. της αμυλοειδωσης σχηματίζει εναποθέσεις στο μεσοκυττάριο διάστημα. Όλες οι εναποθέσεις αμυλοειδούς περιέχουν παρόμοια πρωτεϊνικά ινίδια που είναι ανθεκτικά στους μηχανισμούς φυσικής άμυνας του οργανισμού και που όταν δημιουργηθούν δεν μπορούν να αφαιρεθούν.

Η αρχή της χρώσης Congo red βασίζεται στη δημιουργία δεσμών γέφυρας υδρογόνου με το υδατανθρακικό μέρος του υποστρώματος. Το Congo red είναι μια ανιονική χρώση και έχει τη δυνατότητα εναπόθεσης σε αμυλοειδή ινίδια, τα οποία τότε εμφανίζουν σημαντικό διχρωισμό υπό πολωμένο φως. Ο ιστός που χρώννυται με το Congo red εμφανίζεται πορτοκαλοκόκκινος υπό το μικροσκόπιο εκπνευμένου φωτός, υπό πολωμένο φως. Ωστόσο, οι εναποθέσεις αμυλοειδούς εμφανίζονται ως φωτεινές πράσινες εικόνες διπλής διάθλασης έναντι σκοτεινού υποβάθρου. Ωστόσο, άλλες δομές που χρώννυται επίσης από το Congo red, όπως π.χ. το κολλαγόνο, δεν απεικονίζονται υπό πολωμένο φως.

Από τεχνικής άποψης η χρώση ενδέχεται να είναι δύσκολη όταν οι τομές παραφίνης που χρησιμοποιούνται είναι πολύ λεπτές (<5 μm) ή όταν ο ιστός είναι υπερβολικά χρωματισμένος.

Υλικό δείγματος

Τομές μονιμοποιημένου σε φορμαλίνη, με έγκλειση σε παραφίνη ιστού χρησιμοποιούνται ως υλικό έναρξης (τομές παραφίνης με πάχος 5 - 6 μm).

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου Κιτ χρώσης Congo Red – για την ανίχνευση
1.01641.0001 αμυλοειδούς κατά Highman

Μέρη συσκευασίας:

Το κιτ χρώσης περιέχει

Αντιδραστήριο 1: Κιτ χρώσης Congo Red διάλυμα Congo Red 100 ml
Αντιδραστήριο 2: Κιτ χρώσης Congo Red διάλυμα KOH 2 x 100 ml

Απαιτούνται επίσης:

Αρ. καταλόγου Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης 500 ml,
1.05174 κατά Gill III 1 l, 2,5 l
για μικροσκοπία

Αρ. καταλόγου Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης 500 ml,
1.05175 κατά Gill II 2,5 l
για μικροσκοπία

Προετοιμασία δείγματος

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από έμπειρο προσωπικό.

Όλα τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με χρήση προηγμένης τεχνολογίας.

Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση.

Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα. Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για εφαρμογή / χρήση.

Κατά τη χρήση των αντίστοιχων βοηθητικών αντιδραστηρίων, πρέπει να τηρούνται οι αντίστοιχες οδηγίες χρήσης.

Κάντε αποπαραφίνωση και επανενυδάτωση τομών με συμβατικό τρόπο.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια του Κιτ χρώσης Congo Red – για την ανίχνευση αμυλοειδούς κατά Highman που χρησιμοποιούνται για τη χρώση είναι έτοιμα για χρήση. Η αραίωση αυτών των διαλυμάτων δεν είναι αναγκαία και προκαλεί μόνο αλλοίωση του αποτελέσματος χρώσης και μείωση της σταθερότητάς τους.

Το Αντιδραστήριο 2 (διάλυμα KOH) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και παρέχει καλά αποτελέσματα ακόμη και όταν έχει γίνει ροζ.

Το ήδη χρησιμοποιημένο διάλυμα KOH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναπλήρωση της φιάλης PE με τη χρήση φίλτρου.

Διαδικασία**Χρώση στο κύτταρο χρώσης**

Κάντε ιστολογικών δειγμάτων πλάκων με συμβατικό τρόπο και επανενυδάτωση σε φθίνουσα σειρά αλκοόλης.

Οι πλάκες θα πρέπει να αφήνονται να σταλάξουν καλά μετά από τα μεμονωμένα βήματα χρώσης, ως μέτρο αποφυγής οποιασδήποτε άσκοπης διασταυρούμενης μόλυνσης διαλυμάτων.

Οι αναγραφόμενοι χρόνοι θα πρέπει να τηρούνται για τη διασφάλιση ενός βέλτιστου αποτελέσματος χρώσης.

Αντικειμενοφόρος πλάκα με ιστολογικά δείγματα	
Απεσταγμένο νερό	1 λεπτό
Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill II και	5 λεπτά
Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill III	
Τρεχούμενο νερό βρύσης	5 λεπτά
Αντιδραστήριο 1 (διάλυμα Congo Red)	10 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	5 λεπτά
Αντιδραστήριο 2 (διάλυμα KOH)	30 - 40 δευτ.
Τρεχούμενο νερό βρύσης	5 λεπτά
Αιθανόλη 96%	30 δευτ.
Αιθανόλη 96%	30 δευτ.
Αιθανόλη 100%	1 λεπτό
Αιθανόλη 100%	1 λεπτό
Ξυλένιο ή Neo-Clear™	5 λεπτά
Ξυλένιο ή Neo-Clear™	5 λεπτά
Στερεώστε τις εφυγραμμένες με Neo-Clear™ πλάκες με Neo-Mount™ ή τις εφυγραμμένες με ξυλένιο πλάκες με π.χ. Entellan™ νέο και καλυπτρίδα.	

Μετά από αφυδάτωση (ανιούσα σειρά αλκοόλης) και διαύγαση με ξυλένιο ή Neo-Clear™, τα ιστολογικά δείγματα μπορούν να στερεωθούν με παράγοντες στερέωσης χωρίς νερό (π.χ. DPX νέο, Entellan™ νέο, Neo-Mount™) και μια καλυπτρίδα και κατόπιν μπορούν να αποθηκευτούν.

Αποτέλεσμα

Κυτταρικοί πυρήνες

σκούρο μπλε

Αμυλοειδές

σε εκπνευόμενο φως

ρόζ έως ερυθρό

σε πολωμένο φως

πράσινη μεταχρωμασία

Συνδυετικός ιστός, κολλαγόνο

ανοιχτό κόκκινο

Αντιμετώπιση προβλημάτων**Η χρώση των αμυλοειδών ινιδίων είναι πολύ ασθενής**

Από τεχνικής άποψης η χρώση ενδέχεται να είναι δύσκολη προπαντός όταν οι τομές παραφίνης που χρησιμοποιούνται είναι πολύ λεπτές (<5 μm), επειδή σε μια τέτοια περίπτωση τα διαθέσιμα αμυλοειδή δεν επαρκούν για την πρόσληψη του ερυθρού του Κονγκό. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Για τον λόγο αυτό, για χρώση θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τομές παραφίνης >5 μm.

Στην περίπτωση υπερβολικά έντονης επώασης με αιθανόλη κατά το βήμα της αφυδάτωσης, η χρωστική ερυθρό του Κονγκό μπορεί να ξεθωριάσει από τον ιστό του δείγματος, με αποτέλεσμα να αποχρωματιστεί το δείγμα.

Οι χρόνοι αφυδάτωσης που καθορίζονται στο πρωτόκολλο θα πρέπει να τηρούνται αυστηρά ως μέτρο για την αποφυγή ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

Τεχνικές σημειώσεις

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται θα πρέπει να πληροί τις απαιτήσεις ενός ιατρικού διαγνωστικού εργαστηρίου και να διαθέτει διάταξη πόλωσης. Όταν χρησιμοποιούνται συστήματα επεξεργασίας ιστών ή συστήματα αυτό-ματης χρώσης, παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης που παρέχονται από τον προμηθευτή του συστήματος και του λογισμικού.

Χαρακτηριστικά αναλυτικής απόδοσης

Το «Κιτ χρώσης Congo Red» χρωματίζει και κατ’ αυτόν τον τρόπο απεικονίζει βιολογικές δομές, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Αποτέλεσμα» αυτών των οδηγιών χρήσης. Το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από εξουσιοδοτημένα και εξειδικευμένα άτομα και η χρήση του περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, την προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων, τον χειρισμό δειγμάτων, την ιστοπεξεργασία, τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τους κατάλληλους μάρτυρες και άλλα.

Η αναλυτική απόδοση του προϊόντος επιβεβαιώνεται με τον έλεγχο κάθε παρτίδας παραγωγής. Η επιτυχής συμμετοχή σε διεθνείς διεργαστηριακές δοκιμές σε τακτική βάση παρέχει επιπρόσθετη και ανεξάρτητη επιβεβαίωση της αναλυτικής ειδικότητας.

Για τις ακόλουθες χρώσεις επιβεβαιώθηκε η αναλυτική απόδοση όσον αφορά την ειδικότητα, την ευαισθησία και την επαναληψιμότητα του προϊόντος με ποσοστό 100%:

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορισμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορισμών	Ειδικότητα εντός του προσδιορισμού	Ευαισθησία εντός του προσδιορισμού
Χρώσης Congo red				
Κυτταρικοί πυρήνες	8/8	8/8	6/6	6/6
Αμυλοειδές (σε εκπεμπόμενο φως)	8/8	8/8	6/6	6/6
Αμυλοειδές (σε πολωμένο φως)	8/8	8/8	6/6	6/6
Συνδετικός ιστός	8/8	8/8	6/6	6/6
Κολλαγόνο	8/8	8/8	6/6	6/6

Αποτελέσματα αναλυτικής απόδοσης

Τα δεδομένα εντός του προσδιορισμού (στην ίδια παρτίδα) και μεταξύ των προσδιορισμών (σε διαφορετικές παρτίδες) δείχνουν τον αριθμό των δομών που χρωματίστηκαν ορθά σε σχέση με τον αριθμό των προσδιορισμών που εκτελέστηκαν.

Τα αποτελέσματα από αυτήν την αξιολόγηση της απόδοσης επιβεβαιώνουν ότι το προϊόν είναι αξιόπιστο και κατάλληλο για τη χρήση για την οποία προορίζεται.

Διάγνωση

Οι διαγνώσεις θα πρέπει να γίνονται μόνο από αρμόδιο και εξουσιοδοτημένο προσωπικό.

Θα πρέπει να χρησιμοποιείται έγκυρη ονοματολογία.

Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους.

Θα πρέπει να επιλεγούν και να εφαρμοστούν περισσότερες δοκιμασίες σύμφωνα με αναγνωρισμένες μεθόδους. Κατάλληλοι έλεγχοι θα πρέπει να διεξάγονται με κάθε εφαρμογή για την αποφυγή λανθασμένου αποτελέσματος.

Για την ταυτοποίηση των αμυλοειδών με βεβαιότητα, τα ευρήματα από τη μικροσκοπία μεταδιδόμενου φωτός θα πρέπει πάντα να ακολουθούνται από επιθεώρηση του υλικού με μικροσκοπία πολωμένου φωτός.

Φύλαξη

Αποθηκεύστε το Κιτ χρώσης Congo Red – για την ανίχνευση αμυλοειδούς κατά Highman σε +15 °C έως +25 °C.

Διάρκεια ζωής

Το Κιτ χρώσης Congo Red – για την ανίχνευση αμυλοειδούς κατά Highman μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.

Μετά το πρώτο άνοιγμα της φιάλης, το περιεχόμενο μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως και την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C.

Το Αντιδραστήριο 2 (διάλυμα KOH) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και παρέχει καλά αποτελέσματα ακόμη και όταν έχει γίνει ροζ.

Το ήδη χρησιμοποιημένο διάλυμα KOH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναπλήρωση της φιάλης PE με τη χρήση φίλτρου.

Οι φιάλες θα πρέπει πάντα να διατηρούνται ερμητικά κλειστές για την αποφυγή της εξάτμισης της αλκοόλης που περιέχεται και κατά συνέπεια για την αποφυγή της αύξησης της συγκέντρωσης της χρωστικής.

Ικανότητα

Η συσκευασία επαρκεί για έως και 50 εφαρμογές.

Πρόσθετες οδηγίες

Για επαγγελματική χρήση μόνο.

Για την αποφυγή σφαλμάτων, η εφαρμογή πρέπει να πραγματοποιείται μόνο από έμπειρο προσωπικό.

Θα πρέπει να ακολουθούνται οι εθνικές κατευθυντήριες γραμμές για την ασφάλεια στην εργασία και τη διασφάλιση ποιότητας.

Πρέπει να χρησιμοποιούνται μικροσκόπια εξοπλισμένα σύμφωνα με τα πρότυπα.

Προστασία από λοίμωξη

Θα πρέπει να λαμβάνονται αποτελεσματικά μέτρα για την προστασία από λοίμωξη σύμφωνα με τις εργαστηριακές κατευθυντήριες γραμμές.

Οδηγίες απόρριψης

Το κιτ και τυχόν μη χρησιμοποιημένες πλάκες ελέγχου πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες γραμμές απόρριψης.

Τα χρησιμοποιημένα διαλύματα και τα διαλύματα των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει πρέπει να απορρίπτονται ως ειδικά απόβλητα σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές. Οι πληροφορίες για την απόρριψη παρέχονται στον σύνδεσμο «Hints for Disposal of Microscopy Products» (Συμβουλές για την απόρριψη των προϊόντων μικροσκοπίας) στη διεύθυνση www.microscopy-products.com. Εντός της ΕΕ, ο τρεχόντως εφαρμοζόμενος ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ είναι ο κανονισμός (ΕΚ) Αρ. 1272/2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τροποποίηση και την κατάργηση των Οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ, και την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αρ. 1907/2006.

Βοηθητικά αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.00496	Διάλυμα φορμαλδεϋδης 4%, ρυθμιστικό, pH 6,9 (περίπου 10% διάλυμα φορμαλίνης) για ιστολογία	350 ml και 700 ml (σε ευρύλαιμη φιάλη), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Αρ. καταλόγου 1.00579	DPX νέο μη υδατικό μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.00974	Μετουσιωμένη αιθανόλη με περίπου 1% μεθυλαιθυλική κετόνη για ανάλυση EMSURE®	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμπάπτισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.05174	Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill III για μικροσκοπία	500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.05175	Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill II για μικροσκοπία	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ νέο μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.08298	Ξυλένιο (ισομερές μείγμα) για ιστολογία	4 l
Αρ. καταλόγου 1.09016	Neo-Mount™ άνυδρο μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.09843	Neo-Clear™ (υποκατάστατο Ξυλενίου) για μικροσκοπία	5 l
Αρ. καταλόγου 1.11609	Παστίλιες Histosec™ με σημείο στερεοποίησης 56-58°C μέσο έγκλεισης για ιστολογία	1 kg, 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg
Αρ. καταλόγου 1.15161	Παστίλιες Histosec™ (χωρίς DMSO) με σημείο στερεοποίησης 56-58°C μέσο έγκλεισης για ιστολογία	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.01641.0001

Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της επικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφαλείας.

Το φύλλο δεδομένων ασφαλείας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτήματος.

ΠΡΟΣΟΧΗ! Περιέχει ουσίες που είναι καρκινογόνες, μεταλλαξιογόνες ή τοξικές για την αναπαραγωγή (KMT). Τηρείτε τις αντίστοιχες οδηγίες ασφαλείας που αναφέρονται στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας.

Κύρια συστατικά του προϊόντος

Αρ. καταλόγου 1.01641.0001

Αντιδραστήριο 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l =	0,93 kg

Αντιδραστήριο 2

KOH 5,69 g/l
 C_2H_5OH 749 g/l
 1 l = 0,84 kg

Γενική παρατήρηση

Εάν κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή εξαιτίας της χρήσης της, προκληθεί σοβαρό συμβάν, να το αναφέρετε στον κατασκευαστή και/ή στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του καθώς και στις εθνικές αρχές.

Δογοτεχνία

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H290: Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

H315: Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.

H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

H350: Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

P202: Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.

P210: Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνή φλόγα και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.

P233: Να διατηρείται ο περιέκτης ερμητικά κλειστός.

P303 + P360 + P353: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλετε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.

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.

P308 + P313: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Συμβουλευθείτε/ Επισκεφθείτε γιατρό.

Αντιδραστήριο 1:

H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H350: Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

Αντιδραστήριο 2:

H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H290: Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

H315: Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.

H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-01	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως
EEEE-MM-HH



Όρια θερμοκρασίας

Status: 2024-Jul-01

H Life Science Business της Merck λειτουργεί ως MilliporeSigma στις Η.Π.Α. και τον Καναδά

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany και/ή οι συνδεδεμένες αυτής εταιρείες. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Το Merck και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω πόρων που διατίθενται δημοσίως.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
 Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001 **REF**

Mikroskopi

Kongoröd färgningskit

Kit för påvisande av amyloid enl. Highman

Endast för yrkesmässig användning

Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik

Avsett syfte

Denna "Kongoröd färgningskit - Kit för påvisande av amyloid enl. Highman" används till humanmedicinsk celldiagnostik vid histologisk undersökning av provmaterial av mänskligt ursprung. Det är en bruksfärdig färgningssats som, när den används tillsammans med andra *in vitro*-diagnostiska produkter från vårt sortiment, möjliggör en diagnostisk utvärdering av målstrukturer (genom fixering, inbäddning, färgning, motfärgning och montering) i histologiska provmaterial, t.ex. histologiska snitt av t.ex. njure, tarm eller lever.

Kongoröd färgningskit - Kit för påvisande av amyloid enl. Highman innehåller alla reagenser som behövs till färgning av amyloid i histologiska preparat.

Ofärgade strukturer har relativt låg kontrast och är extremt svåra att särskilja i ljusmikroskop. De bilder som skapas med färgningslösningen underlättar för den behöriga och kvalificerade forskaren att bättre definiera formen och strukturen i sådant fall. Ytterligare undersökningar kan bli nödvändiga för att ställa en definitiv diagnos.

Princip

Amyloid är en homogen struktur bestående av proteinfibriller (som var och en är mellan 8 och 15 nm i diameter) och som kan färgas eosinofiliskt, vilket t.ex. vid amyloidosis ger upphov till avlagringar i de intercellulära utrymmena. Alla avlagringar med amyloid innehåller liknande proteinfibriller som är resistenta mot kroppens naturliga försvarsmekanismer och när de väl har bildats kan de inte avlägsnas.

Färgningsprincipen med färgämnet kongorött bygger på att det bildar vätebindningar med substratets kolhydrater. Kongoröd är ett anjoniskt färgämne och har förmågan att avlagra sig själv i amyloidfibriller, som sedan får en iögonfallande dikroism i polariserat ljus. En vävnad som färgats med kongorött har orange-röd färg i genomlysande ljus i mikroskopet, men amyloidavlagringar i polariserat ljus är dubbelbrytande och får en strålände grön färg mot en mörk bakgrund. Andra strukturer som också kan färgas med kongorött är t.ex. kollagen, men det kan inte visualiseras i polariserat ljus.

Färgningen kan vara tekniskt svår om paraffinsnitten är för tunna (<5 µm) eller om vävnaden är för kraftigt färgad.

Provmaterial

Snitt av formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad används som utgångsmaterial (5–6 µm tjocka paraffinsnitt).

Reagens

Kat.nr 1.01641.0001 Kongoröd färgningskit
Kit för påvisande av amyloid enl. Highman

Förpackningsinnehåll:

Färgningssatsen innehåller

Reagens 1: Kongoröd-färgningskit, kongoröd-lösning 100 ml
Reagens 2: Kongoröd-färgningskit, KOH-lösning 2 x 100 ml

Dessutom behövs:

Kat.nr 1.05174 Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill III 500 ml,
för mikroskopi 1 l, 2,5 l
Kat.nr 1.05175 Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill II 500 ml,
för mikroskopi 2,5 l

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal.

Alla prover måste bearbetas med modern teknik.

Alla prover måste märkas tydligt.

Lämpliga instrument ska användas för provtagning och provberedning. Följ tillverkarens instruktioner för applicering/användning.

Vid användning av respektive hjälpreagenser måste respektive bruksanvisningar följas.

Avparaffinera och rehydrera snitten på sedvanligt vis.

Reagensberedning

Reagensen i Kongoröd färgningskit - Kit för påvisande av amyloid enl. Highman är bruksfärdiga. Spädning av lösningarna är inte nödvändigt – det resulterar i ett försämrat färgningsresultat och en försämrade färgningsstabilitet.

Reagens 2 (KOH-lösning) kan fortfarande användas och ge goda resultat även om den färgats rosa.

KOH-lösning som redan använts kan fyllas på i PE -flaskan igen genom ett filter.

Förfarande

Färgning i färgkyvett

Avparaffinera de histologiska objektglasen på sedvanligt vis och rehydrera med alkohol i fallande koncentrationer.

Objektglasen måste droppa av ordentligt efter de enskilda färgningsstegen, i syfte att undvika onödig korskontaminering av lösningar.

De angivna tiderna ska följas för att ett optimalt färgningsresultat ska kunna garanteras.

Objektglas med ett histologiskt prov	
Destillerat vatten	1 min.
Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill II eller Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill III	5 min.
Rinnande kranvatten	5 min.
Reagens 1 (kongoröd-lösning)	10 min.
Rinnande kranvatten	5 min.
Reagens 2 (KOH-lösning)	30 - 40 s
Rinnande kranvatten	5 min.
Etanol 96 %	30 s
Etanol 96 %	30 s
Etanol 100 %	1 min.
Etanol 100 %	1 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Montera de Neo-Clear™-våta objektglasen med Neo-Mount™ eller de xylen-våta objektglasen med t.ex. Entellan™ ny och täckglas.	

Efter dehydrering (med alkohol i stigande koncentrationer) och klarning med xylen eller Neo-Clear™ kan histologiska prover monteras med vattenfria monteringsmedel (t.ex. DPX ny, Entellan™ ny, Neo-Mount™) och täckglas. Efter det är de redo att förvaras.

Resultat

Cellkärnor mörkblå
Amyloid i genomlysande ljus rosa till röda
i polariserat ljus grön metakromasi
Bindväv, kollagen ljusröd

Felsökning

Amyloidfibrillerna är för svagt färgade

Färgningen kan vara tekniskt svår, framför allt om paraffinsnitten är för tunna (<5 µm), eftersom det då inte finns tillräckligt med amyloid för upptagning av kongorött. Det kan ge falskt negativa resultat. Av det skälet bör paraffinsnitt >5 µm tas till färgning.

Vid överintensiv inkubering med etanol i dehydreringssteget kan kongorött tvättas ut ur vävnadsproverna, så att de avfärgas. De dehydreringstider som anges i protokollet ska hållas strikt som en åtgärd för att undvika falskt negativa resultat.

Tekniska anmärkningar

Mikroskopet som används ska uppfylla kraven för ett laboratorium för medicinsk diagnostik och vara utrustad med en polariseringsenhet. Om histoprocessorer eller automatiska färgningssystem används ska du följa bruksanvisningarna från leverantören av systemet och programvaran.

Analytiska prestandaegenskaper

"Kongoröd färgningskit" infärgar och visualiserar biologiska strukturer enligt beskrivningen i kapitlet "Resultat" i den här bruksanvisningen. Produkten får bara användas av behöriga och kvalificerade personer för bland annat prov- och reagenspreparering, provhantering, vävnadsanalys, val av lämpliga kontroller med mera.

Produktens analytiska prestanda bekräftas genom att varje produktionssats testas. Regelbundet och framgångsrikt deltagande i internationella jämförande laboratorietester ger ytterligare och opartisk verifiering av analytisk specificitet.

För följande infärgningar verifierades analytiska prestanda avseende specificitet, känslighet och repeterbarhet hos produkten i 100% av fallen:

	Specificitet mellan analyser	Känslighet mellan analyser	Specificitet inom en analys	Känslighet inom en analys
Kongoröd-färgning				
Cellkärnor	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (i genom-lysande ljus)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (i polari-serat ljus)	8/8	8/8	6/6	6/6
Bindväv	8/8	8/8	6/6	6/6
Kollagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Analytiska prestandaresultat

Intradata (erhållna från samma sats) och interdata (erhållna från olika satser) anger antalet korrekt infärgade strukturer i förhållande till antalet genomförda analyser.

Resultatet av prestandautvärderingen bekräftar att produkten är lämplig för den avsedda användningen och fungerar tillförlitligt.

Diagnostik

Diagnoser ska ställas av behörig och kvalificerad personal. Giltiga nomenklaturer måste användas. Den här metoden kan användas som tillägg vid humandiagnostik. Ytterligare tester måste väljas och genomföras i enlighet med erkända metoder. Lämpliga kontroller ska genomföras med varje applicering för att undvika ett felaktigt resultat. För att identifiera amyloid med säkerhet ska fynden under genomgående ljus alltid följas av inspektion av materialet under polariserat ljus.

Förvaring

Förvara Kongoröd färgningskit - Kit för påvisande av amyloid enl. Highman vid +15 °C till +25 °C.

Hållbarhetstid

Kongoröd färgningskit - Kit för påvisande av amyloid enl. Highman kan användas fram till angivet utgångsdatum.

När flaskan har öppnats för första gången kan innehållet användas fram till angivet utgångsdatum om den förvaras vid +15 °C till +25 °C.

Reagens 2 (KOH-lösning) kan fortfarande användas och ge goda resultat även om den färgats rosa. KOH-lösning som redan använts kan fyllas på i PE -flaskan igen genom ett filter.

Flaskorna ska alltid hållas väl tillslutna för att undvika att alkoholen i innehållet avdunstar och därmed gör att färgämnets koncentration ökar.

Kapacitet

Paketet räcker för upp till 50 appliceringar.

Ytterligare instruktioner

Endast för yrkesmässig användning.

För att undvika fel får appliceringen endast utföras av kvalificerad personal. Nationella riktlinjer för arbetsskydd och kvalitetssäkring måste följas. Mikroskop som används måste vara utrustade enligt standard.

Skydd mot infektion

Effektiva åtgärder måste vidtas för att skydda mot infektion i linje med laboratoriets riktlinjer.

Instruktioner för avfallshantering

Satsen och oanvända kontrollglas måste kasseras i enlighet med gällande riktlinjer för avfallshantering. Använda lösningar och lösningar som passerat utgångsdatum måste tas om hand som farligt avfall i enlighet med lokala riktlinjer. Information om avfallshantering finns under snabbblänken "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Tips för kassering av mikroskopiprodukter) på www.microscopy-products.com. Inom EU gäller förordning (EG) nr 1272/2008 om klassificering, märkning och förpackning av ämnen och blandningar, ändring och upphävande direktiv 67/548/EEG och 1999/45/EG och ändring av förordning (EG) nr 1907/2006 tillämpas.

Hjälpregagens

Kat.nr 1.00496	Formaldehydlösning 4%, buffrad, pH 6,9 (ca 10% formalinlösning) för histologi	350 ml och 700 ml (i bredhalsad flaska), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Kat.nr. 1.00579	DPX ny vattenfritt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml

Kat.nr 1.00869	Entellan™ ny, täckglas för mikroskopi	500 ml	sv
Kat.nr 1.00974	Etanol denaturerad med ca 1 % metyletylketon, pro analysi EMSURE®	1 l, 2,5 l	
Kat.nr 1.04699	Immersionsolja för mikroskopi	100 ml droppflaska, 100 ml, 500 ml	
Kat.nr 1.05174	Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill III för mikroskopi	500 ml, 1 l, 2,5 l	
Kat.nr 1.05175	Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill II för mikroskopi	500 ml, 2,5 l	
Kat.nr. 1.07961	Entellan™ ny snabbt monteringsmedium för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l	
Kat.nr. 1.08298	Xylen (isomerblandning) för histologi	4 l	
Kat.nr. 1.09016	Neo-Mount™ vattenfritt monteringsmedel för mikroskopi	100 ml droppflaska, 500 ml	
Kat.nr 1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitut) för mikroskopi	5 l	
Kat.nr 1.11609	Histosec™ pastiller stelningspunkt 56–58 °C inbäddningsmedel för histologi	1 kg, 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg	
Kat.nr 1.15161	Histosec™ pastiller (utan DMSO) stelningspunkt 56–58 °C inbäddningsmedel för histologi	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg	

Faroklassificering

Kat.nr 1.01641.0001

Observera faroklassificeringen på etiketten och uppgifterna i säkerhetsdatabladet. Säkerhetsdatabladet finns på webbplatsen och går att få på begäran. VAR FÖRSIKTIG! Innehåller CMR-ämnena. Beakta respektive säkerhetsanvisningar i säkerhetsdatabladet.

Produkternas huvudsakliga beståndsdelar

Kat.nr 1.01641.0001		
Reagens 1		
Färgindex 22120	10 g/l	
C ₂ H ₅ OH	390 g/l	
1 l = 0,93 kg		
Reagens 2		
KOH	5,69 g/l	
C ₂ H ₅ OH	749 g/l	
1 l = 0,84 kg		

Generell anmärkning

Om en allvarlig händelse inträffat vid eller som ett resultat av användning av den här enheten ska den rapporteras till tillverkaren eller dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Litteratur

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.
H290: Kan vara korrosivt för metaller.
H315: Irriterar huden.

H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.
H350: Kan orsaka cancer.

SV

P202: Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna.

P210: Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppen låga eller andra antändningskällor. Rökning förbjuden.

P233: Behållaren ska vara väl tillsluten.

P303 + P360 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten.

P305 + P351 + P338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

P308 + P313: Vid exponering eller misstanke om exponering. Sök läkarhjälp.

Reagens 1:

H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.

H350: Kan orsaka cancer.

Reagens 2:

H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.

H290: Kan vara korrosivt för metaller.

H315: Irriterar huden.

H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-01	Första version med införande av revisionshistorik



Se bruksanvisningen



Tillverkare



Katalognummer



Satskod



Försiktighet, se medföljande dokument



Används före
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperaturbegränsning

Status: 2024-Jul-01

1.01641.0001

REF

Mikroskopie

Barvicí souprava s konžskou červení

Souprava pro stanovení amyloidu dle Highmana

Pouze pro profesionální použití



Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro*



Zamýšlený účel

Tato „Barvicí souprava s konžskou červení - Souprava pro stanovení amyloidu dle Highmana“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k histologickému vyšetření vzorků lidského původu. Jedná se o barvicí soupravu k přímému použití, která při použití v kombinaci s jinými výrobky pro diagnostiku *in vitro* z našeho portfolia umožňuje hodnotit cílové struktury (prostřednictvím fixace, zalití, barvení, dobarvení, montování) v materiálech histologických vzorků, například histologické řezy, včetně například ledviny, střeva nebo jater, pro diagnostické účely.

Tato Barvicí souprava s konžskou červení - Souprava pro stanovení amyloidu dle Highmana – obsahuje všechna činidla potřebná k barvení amyloidu v histologických tkáních.

Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovanému výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímků získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy mohou být nutná další vyšetření.

Princip

Amyloid je homogenní struktura sestávající z proteinových vláken (každé o průměru v rozmezí 8 až 15 nm), které lze barvit eozinofilně a které, např. v případě amyloidu, tvoří depozita v mezibuněčném prostoru. Veškerá depozita amyloidu obsahují podobná proteinová vlákna odolná vůči přirozeným obranným mechanismům v těle, která po vytvoření již nelze odstranit.

Princip barvení konžskou červení je založen na tvorbě vodíkových můstků se sacharidovou složkou substrátu. Konžská červená je aniontová barvivo schopné ukládat se v amyloidových vlákních, která poté v polarizovaném světle vykazují nápadný dichroismus. Tkáň barvená konžskou červení se zdá být pod transmisním světelným mikroskopem oranžově červená. V polarizovaném světle však depozita amyloidu vedou k zářivě zeleným snímkům s dvojitým lomem proti tmavému pozadí. Konžskou červení se barví i další struktury, např. kolageny, ty ale nejsou v polarizovaném světle nevyznačují.

Barvení může být technicky obtížné, pokud jsou použité parafínové řezy příliš tenké (<5 µm) nebo pokud je tkáň příliš silně přebarvená.

Materiál vzorku

Jako výchozí materiál se používají řezy formalínem fixované, v parafínu zalité tkáně (parafínové řezy o tloušťce 5–6 µm).

Činidla

Kat. č. 1.01641.0001 Barvicí souprava s konžskou červení
Souprava pro stanovení amyloidu dle Highmana

Složky balení:

Barvicí souprava obsahuje

Činidlo 1: Barvicí souprava s konžskou červení 100 ml
roztok konžskou červení
Činidlo 2: Barvicí souprava s konžskou červení roztok KOH 2 x 100 ml

Další potřebné materiály:

Kat. č. 1.05174 Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III 500 ml, 1 l, 2,5 l
pro mikroskopii
Kat. č. 1.05175 Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla II 500 ml, 2,5 l
pro mikroskopii

Příprava vzorků

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené.

K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje. Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití.

Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Řezy zbavte parafínu a rehydratujte obvyklým způsobem.

Příprava činidla

Činidla PAS barvicí soupravy – pro detekci aldehydů a mukózních substancí používané k barvení jsou určeny k přímému použití, ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného barvení a jeho stability.

Činidlo 2 (roztok KOH) lze používat, i když je zabarvený do růžova, a poskytuje nadále dobré výsledky.

Použitý roztok KOH lze přelít do PE láhve přes filtr.

Postup

Barvení v barvicí komůrce

Histologická sklíčka zbavte obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.

Sklíčka je třeba po jednotlivých krocích barvení nechat dobře okapat; tímto opatřením se zabrání jakékoli zbytečné zkřížené kontaminaci roztoků.

Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Sklíčko s histologickým vzorkem	
Destilovaná voda	1 min
Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla II nebo Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III	5 min
Tekoucí vodovodní voda	5 min
Činidlo 1 (roztok konžskou červení)	10 min
Tekoucí vodovodní voda	5 min
Činidlo 2 (roztok KOH)	30 - 40 s
Tekoucí vodovodní voda	5 min
Ethanol 96 %	30 s
Ethanol 96 %	30 s
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylen nebo Neo-Clear™	5 min
Xylen nebo Neo-Clear™	5 min
Vlhká sklíčka Neo-Clear™ montujte za použití přípravku Neo-Mount™, případně xylenová vlhká sklíčka např. za použití přípravku Entellan™ nový a krycího sklíčka.	

Po dehydrataci (vzestupnou alkoholovou řadou) a pročištění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear™ lze histologické vzorky montovat za použití bezvodých montovacích přípravků (např. DPX nový, Entellan™ nový, Neo-Mount™) a krycího sklíčka a poté uskladnit.

Výsledek

Buněčná jádra tmavomodrá
Amyloid růžový až červený
v procházejícím světle zelená metachromasie
v polarizovaném světle
Pojivová tkáň, kolagen světle červené

Odstraňování potíží

Příliš slabé obarvení amyloidních fibril

Barvení může být technicky obtížné, zejména pokud jsou použité parafínové řezy příliš tenké (<5 µm), neboť v takovém případě neobsahují dostatečné množství amyloidu ke vstřebání konžské červeně. To může vést k falešně negativním výsledkům. Pro barvení by proto měly být odebírány parafínové řezy o velikosti > 5 µm.

V případě příliš intenzivní inkubace ethanolem v kroku dehydratace může dojít k vymytí konžské červeně z tkáně vzorku a následnému odbarvení vzorku. Doba dehydratace uvedená v protokolu by měla být přísně dodržována, aby se předešlo falešně negativním výsledkům.

Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře a být vybaven polarizačním systémem.

Při používání histoprocessorů nebo automatizovaných barvicích systémů dodržujte prosím návod k použití poskytnutý dodavatelem systému a softwaru.

Analytické výkonnostní parametry

„Barvicí souprava s konžskou červení“ barví a tím vizualizuje biologické struktury, jak je popsáno v kapitole „Výsledek“ tohoto návodu k použití. Výrobek smí používat pouze oprávněné a kvalifikované osoby, což platí mimo jiné pro přípravu vzorků a činidel, manipulaci se vzorky, zpracování histogramů, rozhodnutí o vhodných kontrolách a další.

Analytické parametry výrobku jsou validovány testováním každé výrobní šarže. Další nezávislé potvrzení analytické specifičnosti poskytuje pravidelná úspěšná účast v mezinárodních testech mezi laboratořemi.

U následujícího barvení byla potvrzena analytická výkonnost výrobku z hlediska specifičnosti, senzitivity a opakovatelnosti na 100 %:

	Specifičnost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifičnost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Barvení konžskou červení				
Buněčná jádra	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (v procházejícím světle)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (v polarizovaném světle)	8/8	8/8	6/6	6/6
Pojivová tkáň	8/8	8/8	6/6	6/6
Kolagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

Výsledky v rámci jednoho testu (provedeného na stejné šarži) a mezi testy (provedenými na různých šaržích) uvádějí počet správně obarvených struktur v poměru k počtu provedených testů.

Výsledky tohoto hodnocení funkčnosti potvrzují, že výrobek je vhodný pro zamýšlené použití a spolehlivě funguje.

Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál.

Je nutné používat platné nomenklatury.

Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.

Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznaných metod.

Pro zamezení nesprávným výsledkům by se u každé aplikace měly provádět vhodné kontroly.

Aby bylo možné s jistotou identifikovat amyloid, měla by po nález u procházejícím světle vždy následovat kontrola materiálu v polarizovaném světle.

Skladování

Barvicí souprava s konžskou červení - Souprava pro stanovení amyloidu dle Highmana skladujte při teplotě +15 až +25 °C.

Doba použitelnosti

Barvicí souprava s konžskou červení - Souprava pro stanovení amyloidu dle Highmana lze používat až do uvedeného data použitelnosti.

Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 °C až +25 °C.

Činidlo 2 (roztok KOH) lze používat, i když je zabarvený do růžova, a poskytuje nadále dobré výsledky.

Použitý roztok KOH lze přelít do PE láhve přes filtr.

Lahve by měly být vždy těsně uzavřeny, aby se zabránilo odpařování obsaženého alkoholu a následné zvýšené koncentraci barviva.

Kapacita

Obsah balení stačí až na 50 aplikací.

Další pokyny

Pouze pro profesionální použití.

Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál.

Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality.

Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy.

Ochrana před infekcí

Je nutno přijmout účinná opatření na ochranu před infekcí v souladu s laboratorními směrnici.

Pokyny ohledně likvidace

Soupravu a nepoužitá kontrolní sklíčka je nutné zlikvidovat v souladu se stávajícími předpisy pro likvidaci.

Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnici.

Informace ohledně likvidace lze získat pod rychlým odkazem „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Tipy pro likvidaci výrobků pro mikroskopii) na adrese www.microscopy-products.com.

V rámci EU platí stávající příslušné NAŘÍZENÍ (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, měnící a rušící směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a měnící nařízení (ES) č. 1907/2006.

Pomocná činidla

Kat. č. 1.00496	Formaldehydový roztok 4 %, pufrovaný, pH 6,9 (cca 10 % roztok formalínu) pro histologii	350 ml a 700 ml (v lahvičce s širokým hrdlem), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
-----------------	---	--

Kat. č. 1.00579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml	CZ
Kat. č. 1.00869	Entellan™ nový pro coverslipper pro mikroskopii	500 ml	
Kat. č. 1.00974	Ethanol denaturovaný cca 1 % methylethylketonem pro analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l	
Kat. č. 1.04699	Imerzní olej pro mikroskopii	100ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml	
Kat. č. 1.05174	Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III pro mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l	
Kat. č. 1.05175	Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla II pro mikroskopii	500 ml, 2,5 l	
Kat. č. 1.07961	Entellan™ nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l	
Kat. č. 1.08298	Xylen (isomerická směs) pro histologii	4 l	
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml	
Kat. č. 1.09843	Neo-Clear™ (náhražka xylenu) pro mikroskopii	5 l	
Kat. č. 1.11609	Histosec™ pastilky bod tuhnutí 56-58 °C, zalévací médium pro histologii	1 kg, 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg	
Kat. č. 1.15161	Histosec™ pastilky (bez DMSO) bod tuhnutí 56-58 °C, zalévací médium pro histologii	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg	

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.01641.0001

Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě.

Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání.

POZOR! Obsahuje látky karcinogenní, mutagenní a/nebo toxické pro reprodukci. Dodržujte příslušné bezpečnostní pokyny v bezpečnostním listu.

Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.01641.0001	
Činidlo 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l = 0,93 kg	
Činidlo 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l = 0,84 kg	

Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

Literatura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.
 H290: Může být korozivní pro kovy.
 H315: Dráždí kůži.
 H319: Způsobuje vážné podráždění očí.
 H350: Může vyvolat rakovinu.

P202: Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.
 P210: Chraňte před teplem, horkými povrchy, jiskrami, otevřeným ohněm a jinými zdroji zapálení. Zákaz kouření.
 P233: Uchovávejte obal těsně uzavřený.
 P303 + P360 + P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou.
 P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
 P308 + P313: PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ ošetření.

Činidlo 1:

H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.
 H350: Může vyvolat rakovinu.

Činidlo 2:

H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.
 H290: Může být korozivní pro kovy.
 H315: Dráždí kůži.
 H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-01	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si
přípojené dokumenty



Spotřebujte do
RRRR-MM-DD



Teplotní
omezení

Status: 2024-Jul-01

Divize Life Science společnosti Merck používá v USA a Kanadě název MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany, a/nebo její dceřiné a sesterské společnosti. Všechna práva vyhrazena. Merck a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách lze získat ve veřejně dostupných zdrojích.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
 Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001 **REF****Microscopie****Kit de colorare Roșu Congo**

pentru detectarea amiloidului conf. Highman

Exclusiv pentru uz profesionalDispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro***Scopul preconizat**

„Kit de colorare Roșu Congo - pentru detectarea amiloidului conf. Highman” este utilizat pentru diagnosticul medical al celulelor umane și servește scopului de investigație histologică a eșantioanelor de origine umană. Acesta este un kit de colorare gata de utilizare care, atunci când este utilizat împreună cu alte produse pentru diagnostic *in vitro* din portofoliul nostru, face posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă (prin fixare, încastrare, colorare, contracolorare, montare) din eșantioanele histologice de testat, de exemplu secțiuni histologice din rinichi, intestin sau ficat.

Kit de colorare Roșu Congo - pentru detectarea amiloidului conf. Highman conține toți reactivii necesari pentru colorarea amiloidului în țesuturi.

Structurile necolorate au un contrast relativ scăzut și sunt extrem de dificil de distins sub microscopul optic. Imaginile create folosind soluțiile de colorare ajută investigatorul autorizat și calificat să definească mai bine forma și structura în astfel de cazuri. Pot fi necesare examinări suplimentare pentru a ajunge la un diagnostic definitiv.

Principiu de funcționare

Amiloidul este o structură omogenă compusă din fibrile de proteină (fiecare având diametrul între 8 și 15 nm) care pot fi colorate eozinofilic și care, de exemplu în caz de amiloidoză, formează depozite în spațiul intercelular. Toate depozitele de amiloid conțin fibrile de proteină similare și sunt rezistente la mecanismele naturale de apărare ale organismului, odată formate neputând fi eliminate.

Principiul colorației roșu Congo se bazează pe formarea de punți de legătură de hidrogen cu componenta carbohidrat a substratului. Roșul Congo este un pigment anionic ce este capabil să se depoziteze în fibrilele amiloidice, care apoi prezintă un dicroism evident în lumină polarizată. Țesutul colorat cu roșu Congo apare de culoare portocaliu-roșatică la microscopul cu lumină transmisă; pe de altă parte, în lumină polarizată, depozitele de amiloid apar ca imagini cu dublă refracție, de culoare verde strălucitor, pe un fundal întunecat. În schimb, alte structuri care sunt colorate tot cu roșu Congo, de exemplu colagenul, nu sunt vizualizate în lumină polarizată.

Colorarea poate fi dificilă din punct de vedere tehnic atunci când secțiunile în parafină utilizate sunt prea subțiri (<5 μm) sau când țesutul este colorat în exces.

Eșantion de probă

Ca materii prime sunt folosite secțiuni de țesut fixat în formalină, încastrat în parafină (secțiuni de parafină de 5 - 6 μm grosime).

Reactivi

Cat. nr. Kit de colorare Roșu Congo
1.01641.0001 pentru detectarea amiloidului conf. Highman

Componentele pachetului:

Kitul de colorare conține

Reactiv 1: Kit de colorare Roșu Congo soluție Roșu Congo 100 ml
Reactiv 2: Kit de colorare Roșu Congo soluție KOH 2 x 100 ml

De asemenea, este necesar:

Cat. nr. Hematoxilina - soluție modificată conform 500 ml,
1.05174 Gill III 1 l, 2,5 l
pentru microscopie

Cat. nr. Hematoxilina - soluție modificată conform 500 ml,
1.05175 Gill II 2,5 l
pentru microscopie

Prepararea probelor

Prelevarea probelor trebuie efectuată de personal calificat.

Toate probele vor fi tratate cu ajutorul tehnologiei de ultimă oră.

Toate probele vor fi etichetate clar.

Vor fi utilizate instrumente adecvate pentru prelevarea și pregătirea probelor.

Vor fi respectate instrucțiunile producătorului privind aplicarea/utilizarea.

La utilizarea reactivilor auxiliari corespunzători, trebuie respectate instrucțiunile de utilizare corespunzătoare.

Deparafinizați și rehidratați secțiunile folosind o metodă convențională.

Prepararea reactivului

Reactivii din Kit de colorare Roșu Congo - pentru detectarea amiloidului conf. Highman folosit pentru colorare este gata de utilizare, diluarea soluțiilor nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Reactivul 2 (soluție KOH) poate fi utilizat în continuare cu rezultate bune chiar dacă devine roz.

Soluția KOH folosită poate fi turnată din nou în flaconul PE printr-un filtru.

Procedură**Colorarea în celula de colorare**

Deparafinizați lamele histologice prin metoda convențională și rehidratați într-o serie descendentă de alcooluri.

Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăsate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală.

Trebuie respectate perioadele de timp specificate, pentru a garanta un rezultat optim al colorării.

Lamă cu specimen histologic	
Apă distilată	1 min
Hematoxilina - soluție modificată conform Gill II sau Hematoxilina - soluție modificată conform Gill III	5 min
Jet de apă de la robinet	5 min
Reactiv 1 (soluție Roșu Congo)	10 min
Jet de apă de la robinet	5 min
Reactiv 2 (soluție KOH)	30 - 40 sec.
Jet de apă de la robinet	5 min
Etanol 96%	30 sec.
Etanol 96%	30 sec.
Etanol 100%	1 min
Etanol 100%	1 min
Xilen sau Neo-Clear™	5 min
Xilen sau Neo-Clear™	5 min
Montați lamele umezite cu Neo-Clear™ cu Neo-Mount™ sau lamele umezite cu xilen cu de ex. Entellan™ nou și capac de sticlă.	

După deshidratare (serie descendentă de alcooluri) și curățare cu xilen sau Neo-Clear™, probele histologice pot fi montate cu agenți de montare fără apă (ex. DPX nou, Entellan™ nou, Neo-Mount™) și un capac de sticlă, apoi pot fi depozitate.

Rezultat

Nucleu celulare	albastru închis
Amiloid în lumină transmisă	roz până la roșu
Amiloid în lumină polarizată	metacromazie verde
Țesut conjunctiv, colagen	roșu deschis

Depanarea**Colorarea prea slabă a fibrilelor de amiloid**

Colorarea poate fi dificilă din punct de vedere tehnic în special atunci când secțiunile în parafină utilizate sunt prea subțiri (<5 μm) deoarece în aceste situații cantitatea de amiloid nu este suficientă pentru a absorbi colorantul roșu de Congo. Acest lucru poate duce la rezultate fals negative. Din acest motiv, pentru colorare, trebuie obținute secțiuni în parafină de >5 μm.

În cazul unei incubări excesive cu etanol în etapa de deshidratare, colorantul roșu de Congo poate și spălat de pe țesutul eșantionului, obținându-se decolorarea acestuia.

Perioadele de deshidratare specificate în protocol trebuie respectate cu strictețe pentru a evita rezultate fals negative.

Observații tehnice

Microscopul utilizat trebuie să corespundă cerințelor laboratorului pentru diagnostic medical și să fie echipat cu funcție de polarizare. Atunci când folosiți sisteme histoprocsoare sau sisteme pentru colorare automată, respectați instrucțiunile de utilizare oferite de furnizorul sistemului și al software-ului.

Caracteristici de performanță analitică

„Kit de colorare Roșu Congo” colorează și, prin urmare, vizibilizează structurile biologice, așa cum este descris în capitolul „Rezultat” al acestei IDU. Produsul trebuie utilizat numai de către persoane autorizate și calificate, utilizarea incluzând, printre altele, pregătirea probelor și a reactivilor, manipularea probelor, histoprocесarea, deciziile privind controalele adecvate și multe altele.

Performanța analitică a produsului este confirmată prin testarea fiecărui lot de producție. Participarea cu succes la testele interlaboratoare internaționale în mod regulat oferă o confirmare suplimentară și neafiliată a specificității analitice.

Pentru următoarele colorări, performanța analitică a fost confirmată din punct de vedere al specificității, sensibilității și repetabilității produsului cu o rată de 100%:

	Speci-ficitate inter-test	Senzi-tivitate inter-test	Speci-ficitate intra-test	Senzi-tivitate intra-test
Colorare roșu Congo				
Nuclee celulare	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (în lumină transmisă)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (în lumină polarizată)	8/8	8/8	6/6	6/6
Țesut conjunctiv	8/8	8/8	6/6	6/6
Colagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Rezultate de performanță analitică

Datele intra- (efectuate pe același lot) și inter-test (efectuate pe loturi diferite) indică numărul de structuri colorate corect în raport cu numărul de teste efectuate.

Rezultatele acestei evaluări de performanță confirmă faptul că produsul este potrivit pentru utilizarea prevăzută și funcționează fiabil.

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat. Va fi utilizată nomenclatura în vigoare. Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman. Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recunoscute. Trebuie efectuat un control adecvat al fiecărei aplicații pentru a se evita rezultate incorecte.

Pentru o identificare cu certitudine a amiloidului, rezultatele obținute sub lumină transmisă trebuie confirmate ulterior prin examinarea materialului sub lumină polarizată.

Depozitarea

Depozitați Kit de colorare Roșu Congo - pentru detectarea amiloidului conf. Highman la +15 °C până la +25 °C.

Durata de depozitare

Kit de colorare Roșu Congo - pentru detectarea amiloidului conf. Highman poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat. După prima deschidere a flaconului, conținutul poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat, dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C. Reactivul 2 (soluție KOH) poate fi utilizat în continuare cu rezultate bune chiar dacă devine roz. Soluția KOH folosită poate fi turnată din nou în flaconul PE printr-un filtru. Flacoanele trebuie păstrate întotdeauna bine închise pentru a evita evaporarea alcoolului din interior și a preveni astfel concentrarea colorantului.

Capacitatea

Pachetul este suficient pentru până la 50 de aplicații.

Instrucțiuni suplimentare

Exclusiv pentru uz profesional. Pentru a evita erorile, aplicarea trebuie efectuată exclusiv de personal calificat. Vor fi respectate recomandările naționale privind siguranța muncii și asigurarea calității. Trebuie utilizate microscopae echipate conform standardelor.

Protecția împotriva infecției

Vor fi luate măsuri active pentru protejarea împotriva infecției, conform recomandărilor laboratorului.

Instrucțiuni privind eliminarea

Kitul și orice lame de control neutilizate trebuie eliminate în conformitate cu reglementările locale privind eliminarea. Soluțiile utilizate și soluțiile expirate trebuie eliminate ca deșeuri speciale, în conformitate cu normele naționale. Informații privind eliminarea pot fi găsite sub opțiunea Legături Rapide „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Indicii privind eliminarea produselor de microscopie”) la www.microscopy-products.com. În cadrul UE, în prezent se aplică REGULAMENTUL (CE) Nr 1272/2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/45/CE, precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1907/2006.

Reactivi auxiliari

Cat. nr. 1.00496	Formaldehidă soluție tamponată 4%, pH 6,9 (soluție formalină aprox. 10%) pentru histologie	350 ml și 700 ml (în flacoane cu gât larg), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Cat. nr. 1.00579	DPX nou mediu de montare neapos pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.00869	Entellan™ nou mediu de montare pentru lamelă pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.00974	Etanol denaturat cu ~ 1% metil-etil-cetonă pentru analiza EMSURE®	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.05174	Hematoxină - soluție modificată conform Gill III pentru microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.05175	Hematoxină - soluție modificată conform Gill II pentru microscopie	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 1.08298	Xilen (amestec de izomeri) pentru histologie	4 l
Cat. nr. 1.09016	Neo-Mount™ anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.09843	Neo-Clear™ (substituit de xilen) pentru microscopie	5 l
Cat. nr. 1.11609	Histosec™ pastile punct de solidificare 56-58 °C agent de incluziune pentru histologie	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Cat. nr. 1.15161	Histosec™ pastile (fără DMSO) punct de solidificare 56-58 °C agent de incluziune pentru histologie	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg

Categoria de risc

Cat. nr. 1.01641.0001
Observați categoria de risc imprimată pe etichetă și informațiile oferite în fișa de informații de securitate. Fișa de informații de securitate este disponibilă pe website și la cerere. **ATENȚIE!** Conține substanțe CMR. Vă rugăm să respectați instrucțiunile de siguranță corespunzătoare oferite în fișa cu date de securitate.

Componentele principale ale produsului

Cat. nr. 1.01641.0001		
Reactiv 1		
C.I. 22120	10 g/l	
C ₂ H ₅ OH	390 g/l	
1 l = 0,93 kg		
Reactiv 2		
KOH	5,69 g/l	
C ₂ H ₅ OH	749 g/l	
1 l = 0,84 kg		

Observație generală

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Literatură

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.
 H290: Poate fi corosiv pentru metale.
 H315: Provoacă iritarea pielii.
 H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.
 H350: Poate provoca cancer.

P202: A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.

P210: A se păstra departe de surse de căldură, suprafețe fierbinți, scânteii, flăcări și alte surse de aprindere. Fumatul interzis.

P233: Păstrați recipientul închis etanș.

P303 + P360 + P353: ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): Scoateți imediat toată îmbrăcămintea contaminată. Clătiți pielea cu apă.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

P308 + P313: ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: consultați medicul.

Reactiv 1:

H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.
 H350: Poate provoca cancer.

Reactiv 2:

H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.
 H290: Poate fi corosiv pentru metale.
 H315: Provoacă iritarea pielii.
 H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-01	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor



A se consulta
instrucțiunile de utilizare



Producător



Număr articol



Număr lot



Atenție, a se consulta
documentele însoțitoare



A se folosi până în
data de AAAA-LL-ZZ



Temperatura
limită

Status: 2024-Jul-01

The Life Science Business aparținând Merck operează ca MilliporeSigma în SUA și Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany și / sau afiliații săi. Toate drepturile rezervate. Merck și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărci comerciale sunt disponibile prin resurse disponibile public.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001

REF

Mikroskopi

Congo Red farvningskit

til påvisning af amyloid ifølge Highman

Kun til professionel brug

Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose

Beregnet formål

Dette Congo Red farvningskit - til påvisning af amyloid ifølge Highman" anvendes til humanmedicinsk cellediagnose og er beregnet til histologisk undersøgelse af prøvemateriale fra mennesker. Det er et klar-til-brug farvningskit, som når det bruges til *in vitro*-diagnose sammen med andre produkter fra vores sortiment laver målstrukturer i histologiske prøvematerialer (ved fiksering, indstøbning, farvning, kontrastfarvning, montering), eksempelvis histologiske snit af f.eks. nyren, tarmen eller leveren, der kan evalueres til diagnoseformål.

Dette Congo Red farvningskit - til påvisning af amyloid ifølge Highman, der indeholder alle nødvendige reagenser til farvning af amyloid i histologisk væv.

Ufarvede strukturer har en relativ lav kontrast og er ekstremt vanskelige at skelne under lysmikroskopet. De dannede billeder med farveopløsninger hjælper autoriseret og kvalificerede undersøgere med bedre at definere formen og strukturen i sådanne tilfælde. Det kan være nødvendigt med yderligere undersøgelser for at få en definitiv diagnose.

Princip

Amyloid er en homogen struktur, der består af proteinfibre (hver med en diameter på mellem 8 og 15 nm), som kan farves eosinofil, hvilket eksempelvis i tilfælde af amyloidose danner aflejringer i det intercellulære mellemrum. Alle amyloidaflejringer indeholder lignende proteinfibre, der er resistente over for kroppens naturlige forsvarsmekanismer, og som ikke kan fjernes, efter de er blevet dannet.

Congo red-farveprincippet baserer på dannelsen af hydrogenbindinger med substratets kulhydratkomponent. Congo red er et basisk farvestof, der kan aflejres i amyloidfibre, som derefter udviser en påfaldende dikroisme under polariseret lys. Det væv, der farves med congo red, fremstår orange-rødt i lysmikroskopet under polariseret lys. Amyloidaflejringerne fremstår derimod som strålende grønne dobbeltbrydningsbilleder mod en mørk baggrund. Andre strukturer, der også farves af congo red, f.eks. collagen, visualiseres derimod ikke under polariseret lys.

Farvningen kan være vanskelig teknisk set, når de anvendte paraffinsnit er for tynde (<5 µm), eller hvis vævet er farvet for kraftigt.

Prøvemateriale

Snit af formalinfikseret og paraffinindstøbt væv anvendes som udgangsmateriale (paraffinsnit med en tykkelse på 5-6 µm).

Reagenser

Varenr. Congo Red farvningskit
1.01641.0001 til påvisning af amyloid ifølge Highman

Pakkens komponenter:

Farvesættet indeholder

Reagens 1: Congo Red farvningskit Congo red-opløsning 100 ml
Reagens 2: Congo Red farvningskit KOH-opløsning 2 x 100 ml

Også påkrævet:

Varenr. Hæmatoxylinopløsning modificeret ifølge 500 ml,
1.05174 Gill III 1 l, 2,5 l
til mikroskopi

Varenr. Hæmatoxylinopløsning modificeret ifølge 500 ml,
1.05175 Gill II 2,5 l
til mikroskopi

Forberedelse af prøverne

Prøveudtagningen skal udføres af faguddannet personale.

Alle prøver skal behandles ved hjælp af den nyeste teknologi.

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter.

Der skal anvendes egnede instrumenter til prøveudtagning og forberedelse af prøverne. Følg producentens anvisninger med henblik på anvendelse/brug.

Når der anvendes tilhørende hjælpereagenser, skal man følge de tilhørende brugsanvisninger.

Afparaffiner og rehydrer snittene på traditionel vis.

Forberedelse af reagenserne

Reagenserne i Congo Red farvningskit - til påvisning af amyloid ifølge Highman er klar til brug. Fortynding af opløsningen er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningens stabilitet.

Reagens 2 (KOH-opløsning) og giver gode resultater, selv hvis den er farvet pink.

De allerede anvendte KOH-opløsning kan genfyldes i PE-flasken via et filter.

Procedure

Farvning i farvningkuvetten

Deparaffiner de histologiske snit på traditionel vis, og rehydrer dem i en faldende alkoholrække.

Snittene skal dryppe godt af efter hvert farvetrin for at undgå unødvendig krydskontaminering af opløsningerne.

De anførte tider skal overholdes for at sikre et optimalt resultat af farvningen.

Snit med histologisk prøve	
Destilleret vand	1 min.
Hæmatoxylinopløsning modificeret ifølge Gill II eller Hæmatoxylinopløsning modificeret ifølge Gill III	5 min.
Rindende postevand	5 min.
Reagens 1 (Congo red-opløsning)	10 min.
Rindende postevand	5 min.
Reagens 2 (KOH-opløsning)	30 - 40 sek.
Rindende postevand	5 min.
Ethanol 96 %	30 sek.
Ethanol 96 %	30 sek.
Ethanol 100 %	1 min.
Ethanol 100 %	1 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Monter Neo-Mount™ på de Neo-Clear™-vædede objektglas eller monter f.eks. Entellan™ ny på de xylenvædede objektglas, og sæt dækglass på.	

Efter dehydrering (stigende alkoholrække) og klaring med xylen eller Neo-Clear™, kan de histologiske prøver monteres med vandfri monteringsmidler (f.eks. DPX ny, Entellan™ ny, Neo-Mount™) og et dækglass og kan derefter opbevares.

Resultat

Cellekerner	mørkeblå
Amyloid ved gennemlysning under polariseret lys	lyserød til rød grøn metakromasi
Bindevæv, collagen	lys rød

Fejlfinding

For svag farvning af amyloidfibriler

Farvningen kan være vanskelig teknisk set, når de anvendte paraffinsnit er for tynde (<5 µm), da der i dette tilfælde ikke er tilstrækkelig amyloid til rådighed for at optage congo-rød. Dette kan medføre forkerte negative resultater. Derfor bør paraffinsnittene være >5 µm i forbindelse med farvningen.

I tilfælde af en for kraftig inkubation med ethanol i dehydreringstrinet kan congo-rød-farven vaskes ud af prøvevævet, hvilket fører til en affarvning af prøven.

De angivne dehydreringstider i protokollen skal overholdes nøje, da de har til hensigt af undgå forkerte negative resultater.

Tekniske bemærkninger

Det anvendte mikroskop skal leve op til kravene på et laboratorium til medicinsk diagnose og have en polariseringsfunktion.

Ved brug af histoprocessorer og automatiske farvesystemer skal brugervejledningen fra leverandøren af systemet og softwaren følges.

Analytiske ydeevnekarakteristika

”Congo Red farvningskit” farver og visualiserer derved biologiske strukturer, som beskrevet i kapitlet ”Resultat” i denne brugsanvisning. Dette produkt må kun anvendes af autoriserede og kvalificerede personer, hvilket bl.a. inkluderer forberedelse af prøve og reagens, prøvehåndtering, bearbejdning af vævsprøver, afgørelser angående egnede kontroller med mere.

Produktets analytiske ydeevne bekræftes ved test af hvert produktionsparti. Den vellykkede regelmæssige deltagelse i internationale interlaboratorieundersøgelser giver en ekstra og uafhængig bekræftelse af den analytiske specificitet.

For de følgende farver blev den analytiske ydeevne bekræftet med henblik på specificitet, sensitivitet og repeterbarhed for produktet med en rate på 100 %:

	Inter-un- dersøgelse specificitet	Inter-un- dersøgelse sensitivitet	Intra-un- dersøgelse specificitet	Intra-un- dersøgelse sensitivitet
Congo red-farvning				
Cellekerner	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (ved gen-nemlysning)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (under polariseret lys)	8/8	8/8	6/6	6/6
Bindevæv	8/8	8/8	6/6	6/6
Collagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Analytiske ydeevneresultater

Data fra intra- (udført på samme parti) og inter-undersøgelse (udført på forskellige partier) oplister antallet af korrekt farvede strukturer i forhold til antallet af udførte undersøgelser.

Resultaterne af denne ydeevnevurdering bekræfter, at produktet er egnet til den beregnede brug og har en pålidelig ydeevne.

Diagnostik

Diagnoser må udelukkende stilles af autoriseret og kvalificeret personale. Der skal anvendes gyldige nomenklaturer. Denne metode kan anvendes som supplement inden for human diagnostik. Yderligere test skal udvælges og udføres i henhold til anerkendte metoder. Der skal udføres egnede kontroller ved hver anvendelse for at undgå for-kerte resultater.

For at identificere amyloid med sikkerhed skal fundene under udsendt lys altid kontrolleres efterfølgende ved en kontrol af materialet under polarise-ret lys.

Opbevaring

Congo Red farvningskit - til påvisning af amyloid ifølge Highman skal opbevares ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhed

Congo Red farvningskit - til påvisning af amyloid ifølge Highman kan bruges indtil den anførte udløbsdato.

Efter åbning af flasken kan indholdet bruges indtil den anførte udløbsdato, hvis flasken opbevares ved +15 °C til +25 °C.

Reagens 2 (KOH-opløsning) og giver gode resultater, selv hvis den er farvet pink. Den allerede anvendte KOH-opløsning kan genfyldes i PE-flasken via et filter.

Flaskerne skal altid holdes tæt lukkede for at undgå fordampning af alkoholen deri, hvilket dermed ville medføre en forøget koncentration af farvestof-fet.

Kapacitet

Pakken er tilstrækkelig til op til 50 anvendelser.

Yderligere anvisninger

Kun til professionel brug.

For at undgå fejl må produktet kun anvendes af faguddannet personale. Nationale bestemmelser vedrørende arbejdssikkerhed og kvalitetssikring skal overholdes. Der skal anvendes mikroskoper, der udstyret i henhold til de gældende standarder.

Beskyttelse mod infektioner

Der skal træffes effektive foranstaltninger til beskyttelse mod infektioner i henhold til laboratoriets retningslinjer.

Bortskaffelse

Sættet og alle ubrugte kontrolobjektglas skal bortskaffes i overensstemmelse med de gældende bestemmelser for bortskaffelse. Brugte opløsninger og opløsninger, hvor holdbarheden er udløbet, skal bortskaffes som særligt affald i overensstemmelse med de lokale bestemmelser. Oplysninger om bortskaffelse kan findes under linket ”Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tip til bortskaffelse af produkter til mikroskopi) under www.microscopy-products.com. I EU skal den gældende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassificering, mærkning og emballering af stoffer og blandinger og om ændring og ophævelse af direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og om ændring af forordning (EF) nr. 1907/2006 overholdes.

Øvrige reagenser

Varenr. 1.00496	Formaldehydropopløsning 4 %, bufferet pH 6,9 (ca. 10 % formalinopløsning) til histologi	350 ml og 700 ml (i flaske med bred hals), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Varenr. 1.00579	DPX ny vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.00869	Entellan™ ny til coverslipper til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.00974	Ethanol denatureret med ca. 1 % methylethylketon, p.a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.05174	Hæmatoxylinopløsning modificeret ifølge Gill III til mikroskopi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Varenr. 1.05175	Hæmatoxylinopløsning modificeret ifølge Gill II til mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.08298	Xylen (isomerisk blanding) til histologi	4 l
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 500 ml
Varenr. 1.09843	Neo-Clear™ (xylenerstatning) til mikroskopi	5 l
Varenr. 1.11609	Histosec™-pastiller størkningspunkt 56-58°C indstøbningsmiddel til histologi	1 kg, 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg
Varenr. 1.15161	Histosec™-pastiller (uden DMSO) størkningspunkt 56-58°C indstøbningsmiddel til histologi	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg

Fareklassificering

Varenr. 1.01641.0001
Vær opmærksom på den fareklassificering, der er trykt på etiketten, og oplysningerne i sikkerhedsdatabladet. Sikkerhedsdatabladet fås på hjemmesiden og ved forespørgsel. FORSIGTIG! Indeholder CMR-stoffer. Følg de pågældende sikkerhedsanvisninger, som findes i sikkerhedsdatabladet.

Produktets hovedkomponenter

Varenr. 1.01641.0001		
Reagens 1		
Farveindeks 22120		10 g/l
C ₂ H ₅ OH		390 g/l
1 l = 0,93 kg		
Reagens 2		
KOH		5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH		749 g/l
1 l = 0,84 kg		

Generel bemærkning

Hvis der under brugen af dette apparat eller som følge af dets brug opstår en alvorlig hændelse, skal dette meddeles producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og den nationale myndighed.

Litteratur

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Meget brandfarlig væske og damp.
 H290: Kan ætse metaller.
 H315: Forårsager hudirritation.
 H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.
 H350: Kan fremkalde kræft.

P202: Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.

P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.

P233: Hold beholderen tæt lukket.

P303 + P360 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af/ fjernes. Skyl huden med vand.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

P308 + P313: VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

Reagens 1:

H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H350: Kan fremkalde kræft.

Reagens 2:

H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H290: Kan ætse metaller.

H315: Forårsager hudirritation.

H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-01	Første version med introduktion af revisionshistorik



Se brugervejledningen



Producent



Varenummer



Partikode



Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation



Skal bruges inden
ÅÅÅÅ-MM-DD



Tilladt
temperatur

Status: 2024-Jul-01

Life science-afdelingen hos Merck drives under navnet MilliporeSigma i US og Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany og/eller dennes tilknyttede selskaber. Alle rettigheder forbeholdes. Merck og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan findes via de offentligt tilgængelige ressourcer.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
 Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001

REF

Mikroskopiju

Kongo crveno kit za bojanje

Kit za detekciju amyloid prema Highman

Samo za profesionalnu uporabu

IVD

In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Namjena

Ovaj "Kongo crveno kit za bojanje - Kit za detekciju amyloid prema Highman" koristi se za dijagnozu ljudskih stanica te služi u histološkim ispitivanjima materijala uzorka ljudskog podrijetla. To je spremni komplet za bojanje koji kada se koristi skupa s drugim *in vitro* dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude čini cijne strukture (fiksiranjem, uklapanjem bojenjem, protuboženjem, poklapanjem) u materijalima histološkog uzorka, primjerice u histološkim sekcijama npr. bubrega ili crijeva ili jetre, u dijagnostičke svrhe.

Kongo crveno kit za bojanje - Kit za detekciju amyloid prema Highman sadržava sve reagense potrebne za bojenje amiloida u histološkim tkivima. Neobojene strukture imaju relativno niski kontrast i iznimno ih je teško razlikovati pod svjetlosnim mikroskopom. Slike dobivene uz primjenu otopina za bojenje ovlaštenom i kvalificiranom ispituvaču pomažu da u takvim slučajevima bolje definira oblik i strukturu. Možda će biti potrebni dodatni pregledi za postavljanje konačne dijagnoze.

Princip

Amiloid je homogena struktura načinjena od proteinskih fibrila (promjera između 8 i 15 nm) koja se može obojati eozinofilno, što npr. u slučaju amiloidoza tvori depozite u međustaničnom prostoru. Svi depoziti amiloida sadrže slične proteinske filamente koji su otporni na prirodne obrambene mehanizme tijela i jednom kad se stvore nije ih moguće eliminirati.

Načelo bojenja bojom Kongo crveno temelji se na stvaranju vodikovih mostova s ugljikohidratnom komponentom supstrata. Congo crvena je anionska boja sposobna koja se taloži u amiloidnim filamentima, a koja potom iskazuje izražen dikroizam pod polariziranim svjetlom. Tkivo obojano Kongo crvenom bojom čini se narančasto-crveno pod svjetlosnim mikroskopom, pod polariziranim svjetlom međutim nakupine amiloida prikazuju se kao briljantno zelene dvostruko refraktivne snimke spram tamne pozadine. Međutim, druge strukture koje su također boje Congo crvenom bojom, npr. kolagen ne vizualiziraju se pod polariziranim svjetlom.

Bojenje može biti tehnički zahtjevno ako su parafinski rezovi pretanki (< 5 µm) ili ako je tkivo prejak obojeno.

Uzorak

Sekcije formalinom fiksiranih, u parafin uklopljenih tkiva upotrebljavaju se kao početni materijal (sekcije parafina debljine 5-6 µm).

Reagensi

Kat. br. Kongo crveno kit za bojanje
1.01641.0001 Kit za detekciju amyloid prema Highman

Komponente pakiranja:

Komplet za bojenje sadrži

Reagens 1: Kongo crveno kit za bojanje Otopina KOH 100 ml
Reagens 2: Kongo crveno kit za bojanje Otopina Kongo crveno 2 x 100 ml

Također potrebno:

Kat. br. Otopina hematoksilina promijenjena prema 500 ml,
1.05174 Gillu III 1 l, 2,5 l
za mikroskopiju

Kat. br. Otopina hematoksilina promijenjena prema 500 ml,
1.05175 Gillu II 2,5 l
za mikroskopiju

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje.

Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom.

Svi uzorci moraju se jasno označiti.

Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu.

Kada upotrebljavate odgovarajuće pomoćne reagense, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Uklonite parafin i rehidrirajte sekcije na uobičajen način.

Priprema reagensa

Reagensi Kongo crveno kit za bojanje - Kit za detekciju amyloid prema Highman koji se koriste za bojenje spremni su za uporabu, a razrjeđivanje otopina nije potrebno i samo pogoršava rezultate bojenja i njihovu stabilnost.

Reagens 2 (otopina KOH) se unatoč tomu može primijeniti i pruža dobre rezultate, čak iako poprmi ružičastu boju.

Već korištena otopina KOH u polietilensku se bočicu može ponovno uliti preko filtra.

Postupak

Bojenje u stanicama za bojenje

Uklonite parafin s histoloških stakalaca na uobičajen način i rehidrirajte silaznim nizom alkohola.

Stakalca se trebaju postaviti tako da se dobro ocijede nakon svakog zasebnog koraka bojenja da bi se izbjegla nepotrebna unakrsna kontaminacija otopina.

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Stakalce s histološkim uzorkom	
Destilirana voda	1 min
Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu II ili Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu III	5 min
Voda iz slavine	5 min
Reagens 1 (otopina Kongo crveno)	10 min
Voda iz slavine	5 min
Reagens 2 (otopina KOH)	30 - 40 s
Voda iz slavine	5 min
Etanol 96 %	30 s
Etanol 96 %	30 s
Etanol 100 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Ksilen ili Neo-Clear™	5 min
Ksilen ili Neo-Clear™	5 min
Mokra stakalca s otopinom Neo-Clear™ poklopite otopinom Neo-Mount™ ili mokra stakalca s ksilenom npr. otopinom Novi Entellan™ i staklenim pokrovom.	

Nakon dehidracije (uzlazni niz alkohola) i čišćenja ksilenom ili otopinom Neo-Clear™, histološki uzorci mogu se pokriti agansom za poklapanje bez vode (npr. Novi DPX, Novi Entellan™, Neo-Mount™) i staklenim pokrovom te se zatim mogu pohraniti.

Rezultat

Stanične jezgre	tamno plava
Amiloid u prenesenoj svjetlosti na polariziranom svjetlu	ružičasto u crveno zelena metakromazija
Vezivno tkivo, kolagen	svijetlo crveno

Otklanjanje poteškoća

Preslabo bojenje amiloidnih fibrila

Bojenje može biti tehnički zahtjevno, osobito ako su parafinski rezovi pretanki (< 5 µm), jer u tom slučaju nema dovoljno amiloida za apsorpciju kongo crvenila. To može dovesti do lažnih negativnih rezultata. Iz tog razloga za bojenje treba upotrebljavati parafinske rezove > 5 µm.

U slučaju preintenzivne inkubacije s etanolom u koraku dehidiranja, bojilo kongo crvenilo može se isprati s tkivnog uzorka, što može dovesti do obezbojenja uzorka.

Obavezno je potrebno pridržavati se vremena dehidracije navedenih u protokolu radi sprječavanja lažnih negativnih rezultata.

Tehničke napomene

Upotrebljavani mikroskop mora zadovoljavati preduvjete medicinskog dijagnostičkog laboratorija te biti opremljen uređajem za polarizaciju. Prilikom upotrebe histoprocesora i automatske opreme za bojenje slijedite upute za uporabu dobavljača sustava i softvera.

Značajke analitičke učinkovitosti

„Kongo crveno kit za bojanje” boji i tako omogućava vizualizaciju bioloških struktura, kao što je opisano u poglavlju „Rezultat” u ovim uputama za uporabu. Ovaj proizvod smiju upotrebljavati samo ovlaštene i kvalificirane osobe. To se, između ostaloga, odnosi na pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, histološku obradu, donošenje odluka o odgovarajućim kontrolama itd.

Analitička učinkovitost ovog proizvoda potvrđena je ispitivanjem svake proizvodne serije. Uspješno redovito sudjelovanje u međunarodnim među-laboratorijskim ispitivanjima pruža dodatnu i nezavisnu potvrdu analitičke specifičnosti.

Za sljedeće je postupke bojenja potvrđena 100 %-tna analitička učinkovitost proizvoda u pogledu specifičnosti, osjetljivosti i ponovljivosti:

	Specifičnost među ispitivanjima	Osjetljivost među ispitivanjima	Specifičnost unutar ispitivanja	Osjetljivost unutar ispitivanja
Kongo crveno bojenje				
Stanične jezgre	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (u prenesenoj svjetlosti)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (na polariziranom svjetlu)	8/8	8/8	6/6	6/6
Vezivno tkivo	8/8	8/8	6/6	6/6
Kolagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Rezultati analitičke učinkovitosti

Podaci dobiveni unutar ispitivanja (provedeno na istoj seriji) i među ispitivanjima (provedena na različitim serijama) pokazuju broj ispravno obojenih struktura s obzirom na broj provedenih ispitivanja.

Rezultati ove procjene učinkovitosti potvrđuju da je proizvod prikladan za predviđenu uporabu i da pouzdano djeluje.

Dijagnostika

Dijagnoze smije donositi jedino ovlašteno i kvalificirano osoblje. Potrebno je upotrebljavati valjanu nomenklaturu. Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima. Potrebno je odabrati i implementirati dodatne testove sukladno prepoznatim metodama. Potrebno je provesti odgovarajuće kontrole prilikom svake primjene da bi se izbjegli neispravni rezultati.

Da bi se amiloid mogao sa sigurnošću identificirati, nakon nalaza dobivenih pod transmisijskom svjetlosti uvijek napraviti provjeru materijala pod polariziranim svjetlom.

Skладиštenje

Pohranite Kongo crveno kit za bojanje - Kit za detekciju amyloid prema Highman na temperaturi 15 °C do +25 °C.

Rok uporabe

Kongo crveno kit za bojanje - Kit za detekciju amyloid prema Highman može se koristiti do navedenog datuma isteka roka valjanosti. Nakon prvog otvaranja boce, sadržaj se može upotrebljavati do navedenog roka uporabe ako je pohranjen na +15 °C do +25 °C. Reagens 2 (otopina KOH) se unatoč tomu može primijeniti i pruža dobre rezultate, čak iako poprimi ružičastu boju. Već korištena otopina KOH u polietilensku se bočicu može ponovno uliti preko filtra.

Bočica uvijek mora biti čvrsto zatvorena da bi se izbjeglo isparavanje sadržanog alkohola te time spriječilo povećanje koncentracije boje.

Kapacitet

Paket je dostatan za do 50 primjena.

Dodatne upute

Samo za profesionalnu uporabu.

Da bi se izbjegle pogreške, primjenu smije provoditi samo kvalificirano osoblje. Potrebno je slijediti nacionalne smjernice za sigurnost na radu i osiguravanje kvalitete. Potrebno je upotrebljavati mikroskope opremljene sukladno standardu.

Zaštita od infekcije

Potrebno je poduzeti učinkovite mjere za zaštitu od infekcije sukladno smjernicama laboratorija.

Upute za odlaganje

Komplet i sva neiskorištena kontrolna stakalca moraju se odložiti sukladno trenutačnim smjernicama za odlaganje. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok uporabe moraju se odložiti kao poseban otpad sukladno lokalnim smjernicama. Informacije o odlaganju možete dobiti na brzoj poveznici „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Savjeti za odlaganju mikroskopskih proizvoda) na adresi www.microscopy-products.com. Unutar EU-a primjenjuje se trenutačno primjenjiva UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o razvrstavanju, označivanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.

Pomoćni reagensi

Kat. br. 1.00496	Otopina formaldehida 4 %-tna, puferirana, pH 6,9 (oko 10 %-tna otopina formalina) za histologiju	350 ml i 700 ml (u boci širokog grla), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Kat. br. 1.00579	Novi DPX nevedeni medij za poklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.00869	Novi Entellan™ za uređaj za pokrivanje preparata za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.00974	Etanol denaturiran s oko 1 % metil-etil-ketona za analizu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.04699	Imerziona ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.05174	Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu III za mikroskopiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.05175	Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu II za mikroskopiju	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.07961	Novi Entellan™ brzi medij za uklapanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. br. 1.08298	Ksilen (izomerna smjesa) za histologiju	4 l
Kat. br. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.09843	Neo-Clear™ (zamjena za ksilen) za mikroskopiju	5 l
Kat. br. 1.11609	Histosec™ pastile točke skrućivanja 56-58 °C, agens za uklapanje za histologiju	1 kg, 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg
Kat. br. 1.15161	Histosec™ pastile (bez DMSO-a) točke skrućivanja 56-58 °C, agens za uklapanje za histologiju	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.01641.0001
Slijedite klasifikaciju rizika isisanu na oznaci i informacije navedene na sigurnosno-tehničkom listu. Sigurnosno-tehnički list dostupan je na web-mjestu i na zahtjev. OPREZ! Sadržava CMR tvari. Pridržavajte se odgovarajućih uputa vezanih uz sigurnost navedenih u sigurnosno-tehničkom listu.

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.01641.0001		
Reagens 1		
C.I. 22120	10 g/l	
C ₂ H ₅ OH	390 g/l	
1 l =	0,93 kg	
Reagens 2		
KOH	5,69 g/l	
C ₂ H ₅ OH	749 g/l	
1 l =	0,84 kg	

Opća napomena

Ako se tijekom uporabe ovog uređaja ili zbog njegove uporabe dogodi ozbiljan štetni događaj, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom zastupniku te nacionalnom nadležnom tijelu.

Književnost

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Lako zapaljiva tekućina i para.
 H290: Može nagrizati metale.
 H315: Nadražuje kožu.
 H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.
 H350: Može uzrokovati rak.

P202: Ne rukovati prije upoznavanja i razumijevanja sigurnosnih mjera predostrožnosti.
 P210: Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti.
 P233: Čuvati u dobro zatvorenom spremniku.
 P303 + P360 + P353: U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom.
 P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.
 P308 + P313: U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: zatražiti savjet/ pomoć liječnika.

Reagens 1:

H225: Lako zapaljiva tekućina i para.
 H350: Može uzrokovati rak.

Reagens 2:

H225: Lako zapaljiva tekućina i para.
 H290: Može nagrizati metale.
 H315: Nadražuje kožu.
 H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-01	Izvorna verzija s uvodom u povijest revizija



Pročitajte upute za uporabu



Proizvođač



Kataloški broj



Kod serije



Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju



Upotrijebite do GGGG-MM-DD



Ograničenje temperature

Status: 2024-Jul-01

The Life Science Business tvrtke Merck posluje kao MilliporeSigma u SAD-u i Kanadi.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/ili društva-kćeri tog društva. Sva prava pridržana. Merck i Sigma-Aldrich u jarkim bojama zaštitni su znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Svi drugi zaštitni znakovi pripadaju odgovarajućim vlasnicima. Detaljne informacije o zaštitnim znakovima dostupne su putem javno dostupnih resursa.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
 Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001

REF

Mikroskopia

Czerwień Kongo zestaw

do barwienia wg Highmana, do wykrywania amyloidu

Wyłącznie do użytku przez specjalistów

IVD

Urządzenia medyczne do diagnostyki *in vitro*

Przeznaczenie

„Czerwień Kongo zestaw - do barwienia wg Highmana, do wykrywania amyloidu” jest stosowany w cytologicznej diagnostyce klinicznej do badania histologicznego materiału pobieranego od pacjentów. Ten gotowy do użycia zestaw do barwienia, w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki *in vitro* z naszej oferty, umożliwia ocenę diagnostyczną struktur docelowych (poprzez utrwalanie, zatapianie, barwienie, barwienie kontrastowe, zamykanie) preparatów histologicznych przygotowanych z materiału pobranego od pacjentów, na przykład skrawki histologiczne, np. nerki, jelita lub wątroby.

Ten Czerwień Kongo zestaw - do barwienia wg Highmana, do wykrywania amyloidu zawiera wszystkie odczynniki niezbędne do wybarwienia amyloidu w preparatach histologicznych.

Niezabarwione struktury mają stosunkowo niski kontrast i są niezwykle trudne do odróżnienia pod mikroskopem świetlnym. Obrazy utworzone z użyciem roztworów barwiących pomagają upoważnić i wykwalifikowanemu badaczowi lepiej zdefiniować formę i strukturę w takich przypadkach. Konieczne mogą być dalsze badania w celu postawienia ostatecznej diagnozy.

Zasada działania

Amyloid to homogenna masa utworzona przez fibryle białkowe (każda o średnicy między 8 a 15 nm), barwiące się kwasochłannie, które np. w wypadku skrobiawicy tworzą złoże w przestrzeniach międzykomórkowych. Niezależnie od pochodzenia, złoże amyloidu tworzone są przez podobne fibryle białkowe, które są odporne na działanie naturalnych mechanizmów obronnych organizmu i których po uformowaniu nie da się usunąć.

Zasada barwienia czerwieni Kongo opiera się na tworzeniu wiązań wodorowych z węglowodanowym składnikiem substratu. Czerwień Kongo jest barwnikiem anionowym zdolnym do odkładania się w fibrylach amyloidowych, dzięki czemu w świetle spolaryzowanym są one wyraźnie dwukolorowe. Tkanki barwione czerwienią Kongo obserwowane pod mikroskopem w świetle przechodzącym wydają się pomarańczowoczerwone, niemniej w świetle spolaryzowanym złoże amyloidowe barwią się dwukolornie na jaskrawo zielono względem ciemnego tła. Niemniej jednak inne struktury barwione również czerwienią Kongo, np. kolagen, nie są widoczne w świetle spolaryzowanym. Barwienie może być technicznie trudne, gdy użyte skrawki parafinowe są zbyt cienkie (<5 µm) lub gdy tkanka jest zbyt mocno przebarwiona.

Materiał próbek

Materiałem wyjściowym są skrawki tkanek utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie (skrawki parafinowe o grubości 5 – 6 µm).

Odczynniki

Nr kat. Czerwień Kongo zestaw
1.01641.0001 do barwienia wg Highmana, do wykrywania amyloidu

Zawartość opakowania:

Zestaw do barwienia zawiera

Odczynnik 1: Czerwień Kongo zestaw: roztwór czerwieni Kongo 100 ml
Odczynnik 2: Czerwień Kongo zestaw: roztwór KOH 2 x 100 ml

Również wymagane:

Nr kat. Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg 500 ml,
1.05174 Gilla III 1 l, 2,5 l
do mikroskopii

Nr kat. Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg 500 ml,
1.05175 Gilla II 2,5 l
do mikroskopii

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być przygotowywane przez wykwalifikowany personel.

Wszystkie próbki muszą być opracowywane z użyciem najnowocześniejszych technologii.

Wszystkie próbki należy wyraźnie oznaczać.

Do pobierania i przygotowywania próbek należy używać odpowiednich urządzeń i narzędzi. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi zastosowania/użycia.

Podczas stosowania odpowiednich odczynników pomocniczych należy przestrzegać odpowiedniej instrukcji użytkowania.

Skrawki należy odparafinować i uwodnić w sposób konwencjonalny.

Przygotowywanie odczynników

Odczynniki z Zestaw do barwienia metodą PAS - do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów są gotowe do użycia i rozcieńczanie ich nie jest wymagane, lecz doprowadzi tylko do pogorszenia wyników barwienia i ich stabilności.

Odczynnik 2 (roztwór KOH) może być nadal używany i zapewnia dobre wyniki, nawet gdy jego zabarwienie zmieni się na różowe.

Użyty już roztwór KOH można ponownie przełać do butelki z PE przez filtr.

Procedura

Barwienie w komorze

Preparaty histologiczne należy odparafinować w sposób konwencjonalny i uwodnić w szeregu roztworów alkoholu o malejących stężeniach.

Po każdym z etapów barwienia preparaty należy pozostawić do obcieknięcia, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów.

Aby osiągnąć optymalny wynik, należy stosować się do zalecanych czasów barwienia.

Szkiełko podstawowe z preparatem histologicznym	
Woda destylowana	1 min.
Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla II lub Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla III	5 min.
Bieżąca woda wodociągowa	5 min.
Odczynnik 1 (roztwór czerwieni Kongo)	10 min.
Bieżąca woda wodociągowa	5 min.
Odczynnik 2 (roztwór KOH)	30 - 40 s
Bieżąca woda wodociągowa	5 min.
Etanol 96%	30 s
Etanol 96%	30 s
Etanol 100%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Ksylene lub Neo-Clear™	5 min.
Ksylene lub Neo-Clear™	5 min.
Preparaty nasączone roztworem Neo-Clear™ należy zamknąć, używając środka Neo-Mount™, a preparaty nasączone ksylem należy zamknąć, używając np. preparatu Entellan™ nowy i szkiełka nakrywkowego.	

Po odwodnieniu (w szeregu alkoholi o rosnącym stężeniu) i prześwietleniu ksylem lub środkiem Neo-Clear™, preparaty histologiczne można pokryć bezwodnymi środkami zamykającymi (np. DPX nowy, Entellan™ nowy, Neo-Mount™) i przykryć szkiełkiem nakrywkowym, co pozwala je dalej przechowywać.

Wynik

Jądra komórkowe ciemnoniebieski
Amyloid różowy do czerwonego
w świetle przechodzącym w świetle spolaryzowanym zielony, metachromatycznie
Tkanka łączna, kolagen jasnoczerwony

Rozwiązywanie problemów

Zbyt słabe barwienie fibryli amyloidowych

Barwienie może być trudne technicznie głównie w sytuacji, gdy użyte skrawki parafinowe są zbyt cienkie (<5 µm), ponieważ nie ma wówczas wystarczającej ilości amyloidu do wchłonięcia czerwieni Kongo. Może to doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych. Z tego powodu do barwienia należy użyć wyników parafinowych >5 µm.

W przypadku zbyt intensywnej inkubacji z etanolem na etapie odwadniania, barwnik czerwieni Kongo może zostać wypłukany z próbki, co spowoduje jej odbarwienie.

Należy ściśle przestrzegać czasów odwadniania określonych w protokole. Jest to środek zapobiegający uzyskaniu wyników fałszywie ujemnych.

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi pracowni diagnostyki medycznej i być wyposażony w polaryzator. Podczas korzystania z procesorów tkankowych i automatycznych systemów barwiących należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta systemu i oprogramowania.

Parametry wydajności analitycznej

„Czerwień Kongo zestaw” wybarwia i tym samym wizualizuje struktury biologiczne, jak opisano w rozdziale „Wynik” niniejszej Instrukcji obsługi (IFU). Produkt może być używany wyłącznie przez osoby upoważnione i wykwalifikowane. Dotyczy to między innymi przygotowania próbek i odczynników, postępowania z próbkami, obróbki histologicznej, decyzji dotyczących odpowiednich kontroli i innych.

Wydajność analityczna produktu jest potwierdzana poprzez testowanie każdej partii produkcyjnej. Regularny udział w międzynarodowych badaniach międzylaboratoryjnych stanowi dodatkowe, niezależne potwierdzenie swoistości analizy.

Dla poniższych barwników, w zakresie paramterów analitycznych wymienionych poniżej, potwierdzono, że wskaźnik swoistości, czułości i powtarzalności produktu wynosi 100%:

	Swoistość międzyse-ryjna	Czułość międzyse-ryjna	Swoistość wewnątrz-seryjna	Czułość wewnątrz-seryjna
Barwienie czerwień Kongo				
Jądra komórkowe	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (w świetle przechodzącym)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (w świetle spolaryzowanym)	8/8	8/8	6/6	6/6
Tkanka łączna	8/8	8/8	6/6	6/6
Kolagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Wyniki analityczne

Dane wewnątrz- (wykonane na tej samej serii) i międzyseryjne (wykonane na różnych seriach) przedstawiają wiele prawidłowo wybarwionych struktur w stosunku do liczby wykonanych testów.

Wyniki niniejszej Oceny Wydajności potwierdzają, że produkt jest odpowiedni do zamierzonego zastosowania i działa niezawodnie.

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i wykwalifikowany personel. Należy stosować obowiązujące nazewnictwo. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej. Dalsze badania należy planować i prowadzić zgodnie z uznaną metodologią. Każdorazowe stosowanie odpowiednich kontroli pozwala unikać niepoprawnych wyników. Aby z pewnością zidentyfikować amyloid, po uzyskaniu wyników w warunkach transmitowanego światła należy zawsze przeprowadzić kontrolę materiału w świetle spolaryzowanym.

Przechowywanie

Czerwień Kongo zestaw - do barwienia wg Highmana, do wykrywania amyloidu należy przechowywać w temperaturze pomiędzy +15°C a +25°C. Z powodu wrażliwości odczynnika 2 (odczynnika Schiffa) na światło, należy go przechowywać w ciemności.

Okres przydatności do użycia

Czerwień Kongo zestaw - do barwienia wg Highmana, do wykrywania amyloidu nie należy używać po upływie podanego terminu przydatności do użycia. Po pierwszym otwarciu butelki, zawartość nadaje się do użycia przed upływem wskazanego terminu przydatności, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze między +15°C a +25°C. Odczynnik 2 (roztwór KOH) może być nadal używany i zapewnia dobre wyniki, nawet gdy jego zabarwienie zmienia się na różowe. Użyty już roztwór KOH można ponownie przelać do butelki z PE przez filtr. Butelki powinny być zawsze szczelnie zamknięte, aby uniknąć odparowania alkoholu, a tym samym zapobiec zwiększeniu stężenia barwnika.

Wielkość opakowania

Opakowanie wystarcza na maksymalnie 50 aplikacji.

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez specjalistów. W celu uniknięcia błędów, produkt powinien być stosowany wyłącznie przez wykwalifikowany personel. Należy przestrzegać krajowych wytycznych dotyczących bezpieczeństwa pracy i kontroli jakości. Należy używać mikroskopów, których wyposażenie odpowiada obowiązującym normom.

Ochrona przed zakażeniem

Należy stosować skuteczne środki ochrony przed zakażeniami zgodne z wytycznymi obowiązującymi w pracowni.

Instrukcje dotyczące unieszkodliwiania odpadów

Zestaw i wszelkie niezużyte preparaty kontrolne należy unieszkodliwić zgodnie z aktualnymi wytycznymi w zakresie unieszkodliwiania odpadów. Zużyte roztwory i roztwory po terminie przydatności do użycia należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów specjalnych. Informacje dotyczące utylizacji można znaleźć, korzystając z łącza „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Wskazówki dotyczące utylizacji produktów do mikroskopii”) w witrynie www.microscopy-products.com. Na terenie UE obowiązuje obecnie rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat. 1.00496	Formaldehyd, roztwór 4%, buforowany pH 6,9 (roztwór formaliny ok. 10%) do histologii	350 ml i 700 ml (w butelce z szeroką szyjką), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Nr kat. 1.00579	DPX nowy bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.00869	Entellan™ nowy środek do nakrywarek do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.00974	Etanol denaturowany dodatkiem około 1% ketonu metylowo-etylowego czysty do analiz, EMSURE®	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.04699	Olejek imersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 1.05174	Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla III do mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.05175	Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla II do mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.07961	Entellan™ nowy środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 1.08298	Ksylene (mieszanina izomerów) do histologii	4 l
Nr kat. 1.09016	Neo-Mount™ bezwodny środek do zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml – butelka z zakraplaczem, 500 ml
Nr kat. 1.09843	Neo-Clear™ (zamiennik ksylenu) do mikroskopii	5 l
Nr kat. 1.11609	Histosec™ pastylki temperatura krzepnięcia 56-58°C środek do zatapiania preparatów do histologii	1 kg, 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg
Nr kat. 1.15161	Histosec™ pastylki (bez DMSO) temperatura krzepnięcia 56-58°C środek do zatapiania preparatów do histologii	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.01641.0001 Należy stosować się do klasyfikacji zagrożeń wydrukowanej na etykiecie i informacji podanych w karcie charakterystyki substancji chemicznej. Karta charakterystyki substancji chemicznej jest dostępna w witrynie internetowej i na żądanie. UWAGA! Zawiera substancje CMR. Należy przestrzegać odpowiednich wskazań bezpieczeństwa podanych w karcie charakterystyki.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.01641.0001		
Odczynnik 1		
C.I. 22120		10 g/l
C ₂ H ₅ OH		390 g/l
1 l = 0,93 kg		
Odczynnik 2		
KOH		5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH		749 g/l
1 l = 0,84 kg		

Uwaga ogólna

Jeśli podczas użytkowania tego urządzenia lub w wyniku jego użytkowania wystąpił poważny incydent, to należy zgłosić to producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz organowi krajowemu.

Piśmiennictwo

- 1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- 2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage

3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition

4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press

5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition

6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage

7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition

8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition

9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H290: Może powodować korozję metali.

H315: Działa drażniąco na skórę.

H319: Działa drażniąco na oczy.

H350: Może powodować raka.

P202: Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.

P210: Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.

P233: Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.

P303 + P360 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P308 + P313: W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/ zgłosić się pod opiekę lekarza.

Odczynnik 1:

H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H350: Może powodować raka.

Odczynnik 2:

H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H290: Może powodować korozję metali.

H315: Działa drażniąco na skórę.

H319: Działa drażniąco na oczy.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-01	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian

Zapoznać się z instrukcją użytkownika

Producent

Numer katalogowy

Kod partii

Uwaga: należy zapoznać się z dokumentacją towarzyszącą.

Termin przydatności do użycia: RRRR-MM-DD

Ograniczenia termiczne

Status: 2024-Jul-01

1.01641.0001

REF

Microscopia

Kit de coloração vermelho congo

Kit para a detecção de amiloide seg. Highman

Apenas para uso profissional

IVD

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

CE

Finalidade prevista

Este "Kit de coloração vermelho congo para a detecção de amiloide seg. Highman" é utilizado para o diagnóstico médico de células humanas e serve para a investigação histológica de material de amostra de origem humana. Trata-se de um kit de coloração pronto a usar que, quando utilizado em conjunto com outros produtos de diagnóstico *in vitro* do nosso portefólio, torna as estruturas alvo avaliáveis para fins de diagnóstico (através da fixação, inclusão, coloração, contracoloração, montagem) em materiais de amostras histológicas, por exemplo, cortes histológicos de, por exemplo, rim, intestino ou fígado.

Este Kit de coloração vermelho congo – Kit para a detecção de amiloide seg. Highman, contém todos os reagentes necessários para a coloração da amiloide em tecidos histológicos.

As estruturas não coradas têm um contraste relativamente baixo e são extremamente difíceis de distinguir sob microscopia ótica. As imagens criadas utilizando as soluções de coloração ajudam o investigador autorizado e qualificado a definir melhor a forma e a estrutura nesses casos. Poderão ser necessários exames adicionais para alcançar um diagnóstico definitivo.

Princípio

A amiloide é uma estrutura homogênea composta de fibrilas proteicas (cada uma entre 8 e 15 nm de diâmetro) que podem ser coradas eosinofílicamente, o que, por exemplo, no caso da amiloidose forma depósitos no espaço intercelular. Todos os depósitos de amiloide contêm fibrilas de proteínas semelhantes que são resistentes aos mecanismos de defesa natural do corpo e que, uma vez formadas, não podem ser eliminadas.

O princípio de coloração de vermelho do Congo baseia-se na formação de ligações de ponte de hidrogénio com o componente de hidratos de carbono do substrato. O vermelho do Congo é um corante aniônico que é capaz de se depositar em fibrilas amiloides, que depois exibem um dicroísmo conspicuo sob luz polarizada. O tecido corado com vermelho do Congo aparece laranja-vermelho sob o microscópio de luz transmitida; sob luz polarizada, no entanto, os depósitos de amiloide aparecem como imagens de dupla refração verdes brilhantes contra um fundo escuro. Outras estruturas também coradas pelo vermelho do Congo, por exemplo, colagénio, no entanto, não são visualizadas sob luz polarizada.

A coloração pode ser tecnicamente difícil quando os cortes de parafina utilizados são demasiado finos (< 5 µm) ou quando o tecido está demasiado fortemente corado.

Material da amostra

São utilizados como material de partida cortes de tecido fixado em formalina e envolvido em parafina (cortes de parafina com 5 - 6 µm de espessura).

Reagentes

N.º de cat. 1.01641.0001

Kit de coloração vermelho congo

kit para a detecção de amiloide seg. Highman

Componentes da embalagem:

O kit de coloração contém

Reagente 1: solução de vermelho do Congo 100 ml
Reagente 2: Solução de KOH (cont. etanol) 2 x 100 ml

Também necessário:

N.º de cat. 1.05174 Solução de hematoxilina modificada segundo Gill III para microscopia 500 ml, 1 l, 2,5 l
N.º de cat. 1.05175 Solução de hematoxilina modificada segundo Gill II para microscopia 500 ml, 2,5 l

Preparação de amostras

A amostragem deve ser efetuada por pessoal qualificado.

Todas as amostras devem ser tratadas utilizando tecnologia de ponta.

Todas as amostras devem ser claramente rotuladas.

Devem ser utilizados instrumentos adequados para a colheita de amostras e a respetiva preparação. Seguir as instruções do fabricante para a aplicação/utilização.

Ao utilizar os reagentes auxiliares correspondentes, devem ser respeitadas as instruções de utilização correspondentes.

Desparafinar e voltar a hidratar os cortes da forma convencional.

Preparação de reagentes

Os reagentes do Kit de coloração vermelho congo - Kit para a detecção de amiloide seg. Highman, utilizados para a coloração, estão prontos a usar. A diluição das soluções não é necessária e apenas produz uma deterioração do resultado da coloração e da sua estabilidade.

O reagente 2 (solução KOH) pode continuar a ser utilizado e fornece bons resultados, mesmo quando muda para cor-de-rosa.

A solução KOH já utilizada pode ser reabastecida no frasco de PE sobre um filtro.

Procedimento

Coloração na célula de coloração

Desparafinar as lâminas histológicas da forma convencional e voltar a hidratar numa série de álcool descendente.

As lâminas devem escorrer bem após as etapas de coloração individuais, como medida para evitar qualquer contaminação cruzada desnecessária de soluções.

Os tempos indicados devem ser respeitados para garantir um resultado de coloração ideal.

Lâmina com amostra histológica	
Água destilada	1 min
Solução de hematoxilina modificada segundo Gill II ou Solução de hematoxilina modificada segundo Gill III	5 min
Água da torneira corrente	5 min
Reagente 1 (solução de vermelho do Congo)	10 min
Água da torneira corrente	5 min
Reagente 2 (solução KOH)	30 - 40 seg
Água da torneira corrente	5 min
Etanol 96%	30 seg
Etanol 96%	30 seg
Etanol 100%	1 min
Etanol 100%	1 min
Xileno ou Neo-Clear™	5 min
Xileno ou Neo-Clear™	5 min
Montar as lâminas húmidas Neo-Clear™ com Neo-Mount™ ou as lâminas húmidas com xileno com, por exemplo, Entellan™ new e vidro de cobertura.	

Após a desidratação (série de álcool ascendente) e clarificação com xileno ou Neo-Clear™, as amostras histológicas podem ser montadas com agentes de montagem sem água (por exemplo, Neo-Mount™, Entellan™, DPX new ou Entellan™ new) e um vidro de cobertura e podem ser guardadas.

Resultado

Núcleos	azul escuro
Amiloide	
em luz transmitida	cor-de-rosa a vermelho
em luz polarizada	metacromasia verde
Tecido conjuntivo, colagénio	vermelho claro

Resolução de problemas

A coloração das fibrilas amiloides é demasiado fraca

A coloração pode ser tecnicamente difícil, sobretudo quando os cortes de parafina utilizados são demasiado finos (< 5 µm), uma vez que, nesse caso, não existe amiloide suficiente disponível para assumir o vermelho do Congo. Isto pode produzir resultados falsos negativos. Por este motivo, devem ser colhidos cortes de parafina > 5 µm para coloração.

Em caso de incubação demasiado intensiva com etanol na etapa de desidratação, o corante vermelho Congo pode ser lavado do tecido da amostra, resultando na descoloração da amostra.

Os tempos de desidratação especificados no protocolo devem ser rigorosamente observados como medida para evitar resultados falsos negativos.

Notas técnicas

O microscópio utilizado deve cumprir os requisitos de um laboratório de diagnóstico médico. Ao utilizar processadores histológicos e sistemas de coloração automática, siga as instruções de utilização fornecidas pelo fornecedor do sistema e do software.

Características de desempenho analítico

O "Kit de coloracao vermelho congo" colora e, assim, visualiza estruturas biológicas, conforme descrito no capítulo "Resultado" destas instruções de utilização. A utilização do produto só deve ser efetuada por pessoas autorizadas e qualificadas, o que inclui, entre outras tarefas, preparação de amostras e reagentes, manuseamento de amostras, processamento histológico, decisões relativas a controlos adequados, entre outros. O desempenho analítico do produto é confirmado testando cada lote de produção. A regular participação bem-sucedida em testes interlaboratoriais internacionais fornece uma confirmação adicional e não afiliada da especificidade analítica. Para as seguintes colorações, o desempenho analítico foi confirmado em termos de especificidade, sensibilidade e repetibilidade do produto com uma taxa de 100%:

	Especi- ficidade interensaio	Sensi- bilidade interensaio	Especi- ficidade intraensaio	Sensi- bilidade intraensaio
Coloração de vermelho do Congo				
Núcleos	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloide (em luz transmitida)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloide (em luz polarizada)	8/8	8/8	6/6	6/6
Tecido conjuntivo	8/8	8/8	6/6	6/6
Colagénio	8/8	8/8	6/6	6/6

Resultados de desempenho analítico

Os dados intraensaio (realizados no mesmo lote) e interensaio (realizados em lotes diferentes) indicam o número de estruturas coradas corretamente em relação ao número de ensaios realizados.

Os resultados desta avaliação de desempenho confirmam que o produto é adequado para a utilização prevista e tem um desempenho fiável.

Diagnóstico

Os diagnósticos devem ser efetuados apenas por pessoal autorizado e qualificado. Têm de ser utilizadas nomenclaturas válidas. Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico humano. Devem ser selecionados e implementados testes adicionais de acordo com métodos reconhecidos. Devem ser efetuados controlos adequados em cada aplicação, de forma a evitar um resultado incorreto. Para identificar a amiloide com certeza, os resultados sob luz transmitida devem ser sempre seguidos por uma inspeção do material sob luz polarizada.

Armazenamento

Conserve o Kit de coloracao vermelho congo, kit para a detecção de amilóide seg. Highman entre +15 °C e +25 °C.

Durabilidade

O Kit de coloracao vermelho congo, kit para a detecção de amilóide seg. Highman pode ser utilizado até à data de validade indicada. Após a primeira abertura do frasco, o conteúdo pode ser utilizado até à data de validade indicada, quando conservado entre +15 °C e +25 °C. O reagente 2 (solução KOH) pode continuar a ser utilizado e fornece bons resultados, mesmo quando muda para cor-de-rosa. A solução KOH já utilizada pode ser reabastecida no frasco de PE sobre um filtro. Os frascos devem ser sempre mantidos bem fechados para evitar qualquer evaporação do álcool contido e, por conseguinte, evitar um aumento da concentração do corante.

Capacidade

A embalagem é suficiente para até 50 aplicações.

Instruções adicionais

Apenas para uso profissional. Para evitar erros, a aplicação deve ser efetuada apenas por pessoal qualificado. Devem ser seguidas as diretrizes nacionais para a segurança no trabalho e a garantia da qualidade. Devem ser utilizados microscópios equipados de acordo com a norma.

Proteção contra infeções

Devem ser tomadas medidas eficazes para proteger contra infeções, em conformidade com as diretrizes laboratoriais.

Instruções para eliminação

A embalagem deve ser eliminada de acordo com as diretrizes de eliminação atuais. As soluções usadas e as soluções cuja durabilidade tenha expirado devem ser eliminadas como resíduos especiais, de acordo com as diretrizes locais. As informações sobre a eliminação podem ser obtidas através da ligação rápida "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Sugestões para a eliminação de produtos de microscopia) em www.microscopy-products.com. Na UE, é aplicável o REGULAMENTO (CE) n.º 1272/2008 relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.

Reagentes auxiliares

N.º de cat.	1.00496	Solução de formaldeído a 4%, tamponada, pH 6,9 (solução de formalina a cerca 10%) para histologia	350 ml e 700 ml (em frasco com gargalo largo), 5 l, 10 l, 10 l Titripac® 500 ml
N.º de cat.	1.00579	DPX novo meio de montagem não aquoso para uso em microscopia	
N.º de cat.	1.00869	Entellan™ novo para montagem de lâminas para microscopia	500 ml
N.º de cat.	1.00974	Etanol desnaturado com aprox. 1% de metiletilcetona para análise EMSURE®	1 l, 2,5 l
N.º de cat.	1.04699	Óleo de imersão para microscopia	Frasco conta-gotas de 100 ml, 100 ml, 500 ml
N.º de cat.	1.05174	Solução de hematoxilina modificada segundo Gill III para microscopia	500 ml, 1 l, 2,5 l
N.º de cat.	1.05175	Solução de hematoxilina modificada segundo Gill II para microscopia	500 ml, 2,5 l
N.º de cat.	1.07961	Entellan™ Novo meio de montagem rápido para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
N.º de cat.	1.08298	Xileno (mistura de isómeros) para histologia	4 l
N.º de cat.	1.09016	Neo-Mount™ Meio de montagem anidro para microscopia	Frasco conta-gotas de 100 ml, 500 ml
N.º de cat.	1.09843	Neo-Clear™ (substituto de xileno) para microscopia	5 l
N.º de cat.	1.11609	Histosec™ pastillas ponto de solidificação 56-58 °C agente de inclusão para histologia	1 kg, 10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg
N.º de cat.	1.15161	Histosec™ pastilles (sem DMSO) ponto de solidificação 56-58 °C agente de inclusão para histologia	10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg

Classificação de perigo

N.º de cat. 1.01641.0001 Respeite a classificação de perigo impressa no rótulo e as informações fornecidas na ficha de dados de segurança. A ficha de dados de segurança está disponível no website e mediante pedido. ATENÇÃO! Contém substâncias CMR. Respeite as instruções de segurança correspondentes fornecidas na ficha de dados de segurança.

Componentes principais dos produtos

N.º de cat.	1.01641.0001
Reagente 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l = 0,93 kg	
Reagente 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l = 0,84 kg	

Observação geral

Se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da utilização do mesmo, tiver ocorrido um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Bibliografia

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.
H290: Pode ser corrosivo para os metais.
H315: Provoca irritação à pele.
H319: Provoca irritação ocular grave.
H350: Pode provocar câncer.

P202: Não manuseie o produto antes de ter lido e compreendido todas as precauções de segurança.
P210: Mantenha afastado do calor/ faísca/ chama aberta/ superfícies quentes.- Não fume.
P233: Mantenha o recipiente hermeticamente fechado.
P303 + P361 + P353: EM CASO DE CONTATO COM A PELE (ou com o cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxague a pele com água.
P305 + P351 + P338: EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.
P308 + P313: EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico.

Reagente 1:
H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.
H350: Pode provocar câncer.

Reagente 2:
H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.
H290: Pode ser corrosivo para os metais.
H315: Provoca irritação à pele.
H319: Provoca irritação ocular grave.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-01	Versão inicial com a introdução do histórico de revisões

Consultar as instruções de utilização

Fabricante

Número de Catálogo

Código de lote

Atenção, consultar os documentos anexos.

Utilizar até AAAA-MM-DD

Limites de temperatura

Status: 2024-Jul-01

O sector Life Science da Merck opera como MilliporeSigma nos EUA e Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany e/ou as suas sociedades afiliadas. Todos os direitos reservados. Merck e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos seus respetivos proprietários. Para informações pormenorizadas em matéria de marcas comerciais consultar os recursos disponíveis ao público.

1.01641.0001 **REF****Microscopy****Конго червено набор
за оцветяване**

По Хайман

Само за професионална употребаМедицинско изделие за *in vitro* диагностика**Предназначение**

Конго червено набор за оцветяване - по Хайман се използва за медицинска диагностика на човешки клетки с цел хистологично изследване на материал за проби от човешки произход. Този готов за употреба набор за оцветяване, използван заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашето портфолио, позволява оценката на прицелни структури с диагностична цел (чрез фиксиране, влагане, оцветяване, контраоцветяване, включване в среда) в материали от човешки хистологични проби, например хистологични срези от напр. бъбрек, черва или черен дроб.

Конго червено набор за оцветяване - по Хайман съдържа всички реактиви, необходими за оцветяване на амилоид в хистологични тъкани.

Неоцветените структури са с относително нисък контраст и са изключително трудни за разграничаване под светлинен микроскоп. Изображенията, създадени с помощта на разтворите за оцветяване, служат на оторизирани и квалифицирани патолози като помощно средство за по-добро дефиниране на формата и структурата в такива случаи. За поставяне на окончателната диагноза може да са необходими допълнителни изследвания.

Принцип

Амилоидът е хомогенна структура, съставена от протеинови фибрили (всеки между 8 и 15 nm в диаметър), които могат да бъдат оцветени еозинофилно, което, напр. в случай на амилоидоза, образува отлагания в междуклетъчното пространство. Всички отлагания на амилоид съдържат сходни протеинови фибрили, които са устойчиви на естествените защитни механизми на тялото и веднъж образувани не могат да бъдат елиминирани.

Принципът на оцветяване с Конго червено се основава на образуването на водородни мостови връзки с въглеводородния компонент на субстрата. Конго червеното е анионно багрило, което може да се отлага в амилоидни фибрили, които след това проявяват забележим дихроизъм под поляризирана светлина. Тъканта, оцветена с Конго червено, изглежда оранжево-червена под светлинен микроскоп. Под поляризирана светлина обаче амилоидните отлагания се показват като яркочелени изображения с двойно пречупване на тъмен фон. Други структури, също оцветени с Конго червено, напр. колаген, обаче не се визуализират при поляризирана светлина.

Оцветяването може да бъде технически трудно, когато използваните парафинови срези са твърде тънки (< 5 µm) или когато тъканта е прекалено силно оцветена.

Материал за проби

Като изходен материал се използват срези фиксирана във формалин, вложена в парафин тъкан (парафинови срези с дебелина 5-6 µm).

Реактиви

Кат. № 1.01641.0001
Конго червено набор за оцветяване
По Хайман

Пакетът съдържа:

Наборът за оцветяване съдържа

Реактив 1: Конго червено разтвор 100 ml
Реактив 2: КОН разтвор 2 × 100 ml

Също така е необходимо следното:

Кат. № 1.05174 Хематоксилин разтвор модифициран 500 ml,
по Gill-III 1 l, 2,5 l
за микроскопия
Кат. № 1.05175 Хематоксилин разтвор модифициран 500 ml, 2,5 l
по Gill-II 1 l, 2,5 l
за микроскопия

Подготовка на пробите

Вземането на проби трябва да се извършва от квалифициран персонал. Всички проби трябва да се обработват с помощта на най-съвременна технология. Всички проби трябва да обозначат ясно посредством етикети.

За вземането и подготовката на пробите трябва да се използват подходящи апарати. Следвайте инструкциите на производителя по отношение на приложението / употребата.

При използване на съответните помощни реактиви трябва да се спазват съответстващите им инструкции за употреба.

Срезите следва да се депарафинизират и рехидратират по конвенционалния начин.

Подготовка на реактивите

Реактивите от Конго червено набор за оцветяване - По Хайман, използвани за оцветяване, са готови за употреба и не е необходимо разреждане на разтворите, което само би довело до влошаване на резултата от оцветяването и тяхната стабилност.

Реактив 2 (КОН разтвор) все още може да се използва и дава добри резултати, дори когато е станал розов. Вече използваният КОН разтвор може да се напълни отново в РЕ бутилката през филтър.

Процедура**Оцветяване в оцветителната клетка**

Хистологичните предметни стъкла следва да се депарафинизират по конвенционалния начин и да се рехидратират в низходяща последователност в спирт.

Предметните стъкла трябва да се оставят да се отцедят добре след отделните етапи на оцветяване, като мярка за избягване на ненужно кръстосано замърсяване на разтворите.

За да се гарантира оптималният резултат от оцветяването, е необходимо да се спазва посоченото време.

Предметно стъкло с хистологичен препарат	
Дестилирана вода	1 min
Разтвор на хематоксилин, модифициран съгл. Gill II или Разтвор на хематоксилин, модифициран съгл. Gill III	5 min
Течаща чешмяна вода	5 min
Реактив 1 (Конго червено разтвор)	10 min
Течаща чешмяна вода	5 min
Реактив 2 (КОН разтвор)	30-40 sec
Течаща чешмяна вода	5 min
Етанол 96%	30 sec
Етанол 96%	30 sec
Етанол 100%	1 min
Етанол 100%	1 min
Ксилол или Neo-Clear™	5 min
Ксилол или Neo-Clear™	5 min
Включете навлажнените с Neo-Clear™ предметни стъкла в Neo-Mount™ или навлажнените с ксилол предметни стъкла в напр. Entellan™ new и поставете покривно стъкло.	

След дехидратация (възходяща последователност в спирт) и изясняване с ксилол или Neo-Clear™, хистологичните проби могат да се включват в включваща среда, която не е на водна основа, (напр. Neo-Mount™, Entellan™, DPX new или Entellan™ new) и покривно стъкло, след което могат да се съхраняват.

Резултат

Ядра	тъмносиньо
Амилоид	
под пропусната светлина	розово до червено
под поляризирана светлина	зелена метакромаза
Съединителна тъкан, колаген	светлочервено

Отстраняване на проблеми**Твърде слабо оцветяване на амилоидните фибрили**

Оцветяването може да бъде технически трудно преди всичко, когато използваните парафинови срези са твърде тънки (< 5 µm), тъй като в такъв случай няма достатъчно наличен амилоид, който да поеме Конго червеното. Това може да доведе до фалшиво отрицателни резултати. Поради тази причина за оцветяване трябва да се вземат парафинови срези > 5 µm.

В случай на свръхинтензивна инкубация с етанол в етапа на дехидратация, багрилото Конго червено може да се отбие от тъканта на пробата, което води до обезцветяване на пробата. Времето на дехидратация, посочени в протокола, трябва да се спазват стриктно като мярка за предотвратяване на фалшиво отрицателни резултати.

Технически забележки

Използваният микроскоп трябва да отговаря на медико-диагностичните лабораторни изисквания. При използване на хистопроцесори и автоматични системи за оцветяване трябва да се следват инструкциите за употреба, предоставени от доставчика на системата и софтуера.

Работни характеристики на анализа

Конго червено набор за оцветяване оцветява и по този начин визуализира биологични структури, както е описано в раздел „Резултат“ на тези инструкции за употреба. Продуктът трябва да се използва само от упълномощени и квалифицирани лица по отношение на, но без да се изключват и други неща, подготовката на пробите и реактивите, обработката на пробите, хистологичната обработка, вземането на решения относно подходящите контроли и др.

Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване на всяка производствена партида. Успешното редовно участие в международни междулабораторни тестове дава допълнително и необвързано потвърждение на аналитичната специфичност.

Аналитичните характеристики за следните петна бяха потвърдени по отношение на специфичност, чувствителност и повторямост на продукта със степен 100%:

	Специ- фичност между анализите	Чувстви- телност между анализите	Специ- фичност в рамките на ана- лиза	Чувстви- телност в рамките на ана- лиза
Оцветяване с Конго червено				
Ядра	8/8	8/8	6/6	6/6
Амилоид (под пропусната светлина)	8/8	8/8	6/6	6/6
Амилоид (под поляризирана светлина)	8/8	8/8	6/6	6/6
Съединителна тъкан	8/8	8/8	6/6	6/6
Колаген	8/8	8/8	6/6	6/6

Резултати от аналитичните характеристики

Данните в рамките на анализа (извършено с една и съща партида) и между анализите (извършени с различни партии) посочват броя на правилно оцветените структури във връзка с броя на извършените анализи.

Резултатите от тази оценка на работните характеристики потвърждават, че продуктът е годен за предназначението и работи надеждно.

Диагностика

Диагнозите трябва да се поставят само от оторизирани и квалифицирани специалисти. Необходимо е да се използват валидни номенклатури. Този метод може да се използва допълнително при диагностика на хора. Необходимо е да се изберат и приложат допълнителни изследвания в съответствие с признатите методи. За да се избегнат неправилни резултати, е необходимо с всяко приложение да се извършва подходящ контрол. За да се идентифицира амилоидът със сигурност, откритията под пропусната светлина винаги трябва да бъдат последвани от проверка на материала под поляризирана светлина.

Съхранение

Съхранявайте Конго червено набор за оцветяване - По Хайман при температура от +15 °C до +25 °C.

Срок на съхранение

Конго червено набор за оцветяване - По Хайман може да се използва до посочения срок на годност. След първо отваряне на шишето, съдържанието може да се използва до посочения срок на годност, ако се съхранява при температура от +15 °C до +25 °C. Реактив 2 (КОН разтвор) все още може да се използва и дава добри резултати, дори когато е станал розов. Вече използваният КОН разтвор може да се напълни отново в РЕ бутилката през филтър. Шишетата трябва винаги да се съхраняват плътно затворени, за да се избегне евентуално изпаряване на съдържащия се спирт и по този начин също така да се предотврати повишаване на концентрацията на багрилото.

Капацитет

Опаковката е достатъчна за до 50 приложения.

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба.

За да се избегнат грешки, приложението трябва да се извършва само от квалифицирани специалисти. Необходимо е да се спазват националните насоки за безопасност при работа, както и за осигуряване на качеството. Използваните микроскопи трябва да бъдат оборудвани в съответствие със стандарта.

Защита от инфекции

Необходимо е да се предприемат ефективни мерки за защита от инфекции съгласно указанията на лабораторията.

Указания за изхвърляне

Опаковката трябва да се изхвърля съгласно актуалните указания за изхвърляне. Използваните разтвори и разтворите, чийто срок на съхранение е изтекъл, трябва да се изхвърлят като специален отпадък съгласно местните указания. Информация относно изхвърлянето може да се намери на бързата връзка „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Съвети за изхвърляне на продукти за микроскопия) на адрес www.microscopy-products.com. В рамките на ЕС понастоящем важи приложимият Регламент (ЕО) № 1272/2008 относно класифицирането, етикетирането и опаковането на вещества и смеси, за изменение и за отмяна на Директиви 67/548/ЕО и 1999/45/ЕО и за изменение на Регламент (ЕО) № 1907/2006.

Помощни реактиви

Кат. №	1.00496	Формалдехид разтвор 4%, буфериран, рН 6,9 (приблиз. 10% формалинов разтвор) за хистология	350 ml и 700 ml (в шише с широко гърло), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Кат. №	1.00579	DPX new безводна включваща среда за микроскопия	500 ml
Кат. №	1.00869	Entellan™ new за покривно стъкло за микроскопия	500 ml
Кат. №	1.00974	Етанол денатуриран с около 1% етилметилкетон за анализ EMSURE®	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.04699	Имерсионно масло за микроскопия	100 ml шише с капкомер, 100 ml, 500 ml
Кат. №	1.05174	Хематоксилин разтвор модифициран по Gill-III за микроскопия	500 ml, 1 l, 2,5 l
Кат. №	1.05175	Хематоксилин разтвор модифициран по Gill-II за микроскопия	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.07961	Entellan™ new за микроскопия	100 ml, 500 ml, 1 l
Кат. №	1.08298	Ксилол (изомерна смес) за хистология	4 l
Кат. №	1.09016	Neo-Mount™ безводна заливочна среда для микроскопии	100 ml шише с капкомер, 500 ml
Кат. №	1.09843	Neo-Clear™ (заместител на ксилол) за микроскопия	5 l
Кат. №	1.11609	Histosec™ пастили точка на втвърдяване 56-58 °C фиксатор за хистология	1 kg, 10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg
Кат. №	1.15161	Histosec™ пастили (без DMSO) точка на втвърдяване 56-58 °C фиксатор за хистология	10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg

Класификация на опасностите

Кат. № 1.01641.0001
Моля, съблюдавайте класификацията на опасностите, отпечатана на етикета, както и информацията, дадена в информационния лист за безопасност. Информационният лист за безопасност е наличен на уебсайта, както и при поискване. **ВНИМАНИЕ!** Съдържа CMR субстанции. Моля, съблюдавайте съответните инструкции за безопасност, дадени в информационния лист за безопасност.

Основни компоненти на продуктите

Кат. №	1.01641.0001
Реактив 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l =	0,93 kg
Реактив 2	
КОН	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l =	0,84 kg

Общи бележки

Ако по време на използване или в резултат на употреба на това изделие възникне сериозен инцидент, моля, докладвайте на производителя и/или на негов упълномощен представител, както и на съответния национален орган.

Използвана литература

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage

2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Силно запалими течност и пари.

H290: Може да бъде корозивно за металите.

H315: Предизвиква дразнене на кожата.

H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

H350: Може да причини рак.

P202: Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.

P210: Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък, и други източници на запалване. Тютюнопушенето забранено.

P233: Съдът да се съхранява плътно затворен.

P303 + P361 + P353: ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода.

P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

P308 + P313: ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.

Реактив 1:

H225: Силно запалими течност и пари.

H350: Може да причини рак.

Реактив 2:

H225: Силно запалими течност и пари.

H290: Може да бъде корозивно за металите.

H315: Предизвиква дразнене на кожата.

H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-01	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите



Вижте инструкциите
за употреба



Производител



Каталожен
номер



Код на
партидата



Внимание! Вижте
придружаващата
документация



Използвайте до
ГГГГ-ММ-ДД



Температурно
ограничение

Status: 2024-Jul-01

Лифе Сциенце подразделение на Merck функционира като MilliporeSigma в САЩ и Канада.

© 2024 Merck KGaA, Дармшат, Германия и/или техните филиали. Всички права запазени. Merck и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Дармшат, Германия. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки може да се намери в публично достъпните източници.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001

REF

Mikroszkópia

Kongóvörös festőkészlet

Készlet amiloid detektálásához Highman szerint

Kizárólag szakember általi használatra

IVD

In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz

CE

Rendeltetése

Ez a „Kongóvörös festőkészlet – Készlet amiloid detektálásához Highman szerint” humán eredetű mintaanyagok szövettani vizsgálatát szolgálja a humángyógyászati sejtdiagnosztikában. Ez egy használatra kész festőkészlet, amely a portfóliónk egyéb *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva lehetővé teszi a célstruktúrák diagnosztikai célú kiértékelését (fixálással, beágyazással, festéssel, kontrasztfestéssel, lefedéssel) humán szövettani mintaanyagokban, például a vese, a bél vagy a máj szövettani metszeteiben.

Ez a Kongóvörös festőkészlet – Készlet amiloid detektálásához Highman szerint tartalmazza az amiloidok szövettani festéséhez szükséges valamennyi reagenst.

A meg nem festett struktúrák viszonylag kevésbé kontrasztosak, így nagyon nehéz felismerni őket a fénymikroszkóp alatt. A festési megoldások felhasználásával készített képek segítik a tevékenység végzésére jogosult és képzett vizsgálókat abban, hogy az ilyen esetekben hatékonyabban meghatározassák a formákat és struktúrákat. A végső diagnózis felállításához további vizsgálatok is szükségesek lehetnek.

Elv

Az amiloid egy homogén, fehérjefonalakból (amelyek átmérője egyenként 8–15 nm) álló struktúra, amely eozinofil festődésű és amely pl. amiloidózis esetén lerakódásokat képez a sejtközi állományban. Minden amiloidlerakódás hasonló fehérjefonalakból áll, amelyek ellenállnak a szervezet természetes védekező mechanizmusainak, és ha egyszer már kialakultak, nem távolíthatók el.

A kongóvörös festés elve azon alapul, hogy a festék hidrogénhid-kötéseket alakít ki a szubsztát szénhidrát összetevőivel. A kongóvörös egy anionos festék, amely képes lerakódni az amiloid fibrillumokban, amelyek ezután polarizált fényben feltűnő dichroizmust mutatnak. A kongóvörössel festett szövet átmenőfényes mikroszkópban narancsosvörösnek tűnik; polarizált fényben azonban az amiloidlerakódások ragyogó zöld kettős fénytörésű képletekként ábrázolódnak a sötét háttér előtt. Más kongóvörössel festett struktúrák, pl. kollagén, azonban polarizált fényben nem láthatóak.

A festés technikailag nehézségekbe ütközhet, ha a paraffinos metszetek túl vékonyak (<5 µm), vagy ha a szövet túl erősen túlfestődött.

Mintaanyag

Kiindulási anyagként formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetből készült metszeteket (5–6 µm vastag paraffinos metszetek) használnak.

Reagens

Kat. sz. 1.01641.0001
Kongóvörös festőkészlet

Készlet amiloid detektálásához Highman szerint

Csomag tartalma:

A festőkészlet tartalma

- | | |
|------------------------------|------------|
| 1. reagens: kongóvörös oldat | 100 ml |
| 2. reagens: KOH oldat | 2 × 100 ml |

Szintén szükséges:

- | | |
|--|--------------------|
| Kat. sz. 1.05174 Hematoxilinnoldat, Gill-III szerint módosítva mikroszkópiai célra | 500 ml, 1 l, 2,5 l |
| Kat. sz. 1.05175 Hematoxilinnoldat, Gill II szerint módosítva mikroszkópiai célra | 500 ml, 2,5 l |

Mintaelőkészítés

A mintavételt szakembernek kell elvégeznie.

Minden mintát a legkorszerűbb technikával kell kezelni.

Minden mintát egyértelműen kell felcímkézni.

A mintavételezéshez és a minták előkészítéséhez megfelelő eszközöket kell használni. Az alkalmazással/használatlalt kapcsolatban kövesse a gyártó utasításait.

A megfelelő segédreagens használatkor a hozzájuk tartozó használati útmutatót kell követni.

A metszeteket deparaffinálja és rehidratálja a hagyományos módon.

Reagens-előkészítés

A festésre használt Kongóvörös festőkészlet – Készlet amiloid detektálásához Highman szerint használatra kész, az oldatokat nem kell hígítani, mert az csak rontaná a festés minőségét és a stabilitást.

A 2. reagens (KOH oldat) akkor is használható és jó eredményt ad, ha rózsaszínre változott.

A már használt KOH oldat szűrőn keresztül visszatölthető a PE palackba.

Eljárás

Festés tárgylemeztartó üvegdobozban

A szövettani metszeteket deparaffinálja a hagyományos módon, és rehidratálja leszálló alkoholsorozattal.

A tárgylemezeket hagyni kell, hogy az egyes festési lépéseket követően alaposan lecsepegjen róluk az oldat, hogy megelőzhető legyen az oldatok felesleges keresztzennyeződése.

Az optimális festési eredmény érdekében be kell tartani az előírt időtartamokat.

Tárgylemez a szövettani mintával	
Desztillált víz	1 perc
Gill-II-féle módosított hematoxilinnoldat vagy Gill-III-féle módosított hematoxilinnoldat	5 perc
Folyó csapvíz	5 perc
1. reagens (kongóvörös oldat)	10 perc
Folyó csapvíz	5 perc
2. reagens (KOH oldat)	30–40 mp
Folyó csapvíz	5 perc
Etanol, 96%-os	30 mp
Etanol, 96%-os	30 mp
Etanol, 100%-os	1 perc
Etanol, 100%-os	1 perc
Xilol vagy Neo-Clear™	5 perc
Xilol vagy Neo-Clear™	5 perc
Fedje le a Neo-Clear™-oldattal benedvesített tárgylemezeket Neo-Mount™ fedőanyaggal, vagy a xilollal benedvesített tárgylemezeket például Entellan™ new fedőanyaggal és fedőlemezzel.	

A dehidratálás (felszálló alkoholsorozattal) és a xilollal vagy Neo-Clear™-oldattal végzett derítés után a szövettani metszetek lefedhetők vízmentes (például Neo-Mount™, Entellan™, DPX new vagy Entellan™ new) fedőanyaggal és fedőlemezzel, majd tárolhatók.

Eredmény

Sejtmagok	sötétkék
Amiloid	
átmenő fényben	rózsaszíntől vörösig terjedő szín
polarizált fényben	zöld metakromázia
Kötőszövet, kollagén	világos vörös

Hibaelhárítás

Az amiloid fibrillumok festődése túl gyenge

A festés technikailag nehézségekbe ütközhet mindenekelőtt akkor, ha a használt paraffinos metszetek túl vékonyak (<5 µm), mivel ilyen esetben nem áll rendelkezésre elegendő amiloid a kongóvörös felvételéhez. Ez téves negatív eredményekhez vezethet. Ezért a festéshez >5 µm paraffinos metszeteket kell készíteni.

Ha a dehidratálási lépésben túl intenzív volt az alkoholos inkubáció, akkor a kongóvörös festék kimosódhat a szövetmintából, ami a minta elszíneződéséhez vezet. A protokollban meghatározott dehidratálási időket szigorúan be kell tartani, hogy megelőzzük a téves negatív eredményeket.

Műszaki megjegyzések

A használt mikroszkópnak meg kell felelnie az orvosi diagnosztikai laboratóriumok előírásainak.

Hisztoprocesszorok és automata festőrendszerek használatakor be kell tartani a rendszer és a szoftver forgalmazójától kapott használati útmutató utasításait.

Az analitikai teljesítmény jellemzői

A „Kongóvörös festőkészlet” festi, ezzel láthatóvá teszi a biológiai struktúrákat, ahogy az a jelen használati útmutató „Eredmény” fejezetében olvasható. A terméket csak az arra jogosult, szakképzett személyek használhatják, ami – többek közt – magába foglalja a minta és a reagens előkészítését, a minták kezelését, a szövettani feldolgozást, a megfelelő

A termék analitikai teljesítménye minden gyártási tétel esetében igazolt. A laboratóriumok közötti nemzetközi vizsgálatokban való rendszeres, sikeres részvétel további, független megerősítést jelent az analitikai specificitás szempontjából.

Az alábbi festékek esetében az analitikai teljesítményt a specificitás, az érzékenység és a megismételhetőség tekintetében 100%-os arányban igazolták:

	Mérések közötti specificitás	Mérések közötti érzékenység	Mérésen belüli specificitás	Mérésen belüli érzékenység
Kongóvörös festés				
Sejtmagok	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (átmenő fényben)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (polarizált fényben)	8/8	8/8	6/6	6/6
Kötőszövet	8/8	8/8	6/6	6/6
Kollagén	8/8	8/8	6/6	6/6

Az analitikai teljesítményeredmények

A mérésen belüli (ugyanannál a gyártási tételnél elvégzett) és a mérések közötti (különböző gyártási tételeken elvégzett) adatok tükrözik a helyesen festődő struktúrák elvégzett vizsgálatokhoz viszonyított számát.

Jelen teljesítményértékelés eredményei megerősítik, hogy a termék megfelel a rendeltetésszerű használat céljaira és megfelelően működik.

Diagnosztika

A diagnosztizálást csak arra jogosult, szakképzett személy végezheti el. Az érvényes nomenklatúrát kell használni.

Ez a módszer csak kiegészítésként használható a humán diagnosztikában. A további vizsgálatokat az elismert módszerek alapján kell kiválasztani és végrehajtani.

Minden alkalmazásnál megfelelő kontrollokat kell használni a téves eredmények elkerülése érdekében.

Az amiloid megbízható azonosítása érdekében az átmenő fényben végzett vizsgálatot mindig követnie kell az anyag polarizált fényben történő vizsgálatának.

Tárolás

A Kongóvörös festőkészlet – Készlet amiloid detektálásához Highman szerint +15 °C és +25 °C között tárolandó.

Eltarthatóság

A Kongóvörös festőkészlet – Készlet amiloid detektálásához Highman szerint a feltüntetett lejárati időig használható fel.

A palack tartalma az első felnyitást követően – +15 °C és +25 °C közötti tárolás esetén – a feltüntetett lejárati időig használható fel.

A 2. reagens (KOH oldat) akkor is használható és jó eredményt ad, ha rózsaszínre változott.

A már használt KOH oldat szűrőn keresztül visszatölthető a PE palackba.

A palackokat mindig szorosan lezárva kell tartani, hogy a bennük lévő alkohol ne párologjon, és így a festék koncentrációja ne növekedjen.

Kapacitás

A csomag legfeljebb 50 alkalmazáshoz elegendő.

További utasítások

Kizárólag szakember által használható.

A hibák elkerülése érdekében csak szakképzett személyek használhatják. Be kell tartani a nemzeti munkavédelmi és minőségbiztosítási előírásokat. Az előírások szerint felszerelt mikroszkópokat kell használni.

A fertőzések elleni védelem

A fertőzések megelőzése érdekében a laboratóriumi előírásoknak megfelelő, hatékony intézkedéseket kell alkalmazni.

Ártalmatlanítással kapcsolatos utasítások

A csomagolást az aktuális ártalmatlanítási útmutatók szerint kell ártalmatlanítani.

A felhasználó, illetve lejárt felhasználhatósági idejű oldatokat a speciális hulladékokra vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

Az ártalmatlanítással kapcsolatos tájékoztatás megtalálható a „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Mikroszkópiás vizsgálatokkal kapcsolatos termékek ártalmatlanítására vonatkozó tippek) gyorshivatkozás címen a www.microscopy-products.com weboldalon. Az EU-n belül a vonatkozó hatályos alkalmazandó rendelet a 67/548/EGK és az 1999/45/EK rendeleteket módosító és hatályon kívül helyező, valamint az (EK) 1907/2006 rendeletet módosító, a vegyi anyagok és keverékek osztályba sorolására, csomagolására és címkézésére vonatkozó (EK) 1272/2008 sz. RENDELET.

Kat. sz.	1.00496	Formaldehid oldat, 4%-os, pufferolt, pH 6,9 (kb. 10%-os formalin oldat) hisztológiai célra	350 ml és 700 ml (széles nyakú palackban), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Kat. sz.	1.00579	DPX új nem-vízes fedőanyag mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.00869	Entellan™ new fedőlemezekhez mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.00974	Körülbelül 1% etil-metil-ketonnal denaturált etanol EMSURE®-elemzéshez	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.04699	Immerziós olaj mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtetőpalack, 100 ml, 500 ml
Kat. sz.	1.05174	Hematoxinoldat, Gill-III szerint módosítva mikroszkópiai célra	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.05175	Hematoxinoldat, Gill II szerint módosítva mikroszkópiai célra	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.07961	Entellan™ new gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. sz.	1.08298	Xylene (izometrikus elegy) szövettani célokra	4 l
Kat. sz.	1.09016	Neo-Mount™ vízmentes fedőanyag mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtetőpalack, 500 ml
Kat. sz.	1.09843	Neo-Clear™ (xilohelyettesítő) mikroszkópiai célra	5 l
Kat. sz.	1.11609	Histosec™ pasztilla, dermedéspont 56–58 °C, hisztológiai beágyazóanyag	1 kg, 10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg
Kat. sz.	1.15161	Histosec™ pasztilla (DMSO nélkül), dermedéspont 56–58 °C, hisztológiai beágyazóanyag	10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg

Veszélyességi osztályok

Kat. sz. 1.01641.0001

Tanulmányozza át a címkén látható veszélyességi osztályokat és a biztonsági adatlapon található tájékoztatást.

A biztonsági adatlap a weboldalon érhető el, és kérésre is elküldjük. VIGYÁZAT! CMR anyagokat tartalmaz. Tanulmányozza át a biztonsági adatlapon látható megfelelő biztonsági utasításokat.

A termékek fő alkotóelemei

Kat. sz.	1.01641.0001
1. reagens	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l = 0,93 kg	
2. reagens	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l = 0,84 kg	

Általános megjegyzés

Ha jelen eszköz használata során vagy annak eredményeképp súlyos baleset következne be, akkor azt jelentse a gyártónak és/vagy a hivatalos képviselőének, illetve az adott ország hatóságának.

Irodalom

- 1. Romeis – Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- 2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- 3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- 4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- 5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- 6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- 7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- 8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- 9. Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H290: Fémekre korrozív hatású lehet.

H315: Bőrirritáló hatású.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

H350: Rákot okozhat.

P202: Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.

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

P233: Az edény szorosan lezárva tartandó.

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

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P308 + P313: Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.

1. reagens:

H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H350: Rákot okozhat.

2. reagens:

H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H290: Fémekre korrozív hatású lehet.

H315: Bőrirritáló hatású.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-01	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat



Lásd a használati utasítást



Gyártó:



Katalógusszám



Tételkód



Figyelem, olvassa el a mellékelt dokumentumokat



Felhasználható:
ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérsékleti
határértékek

Status: 2024-Jul-01

A Merck Life Science üzletága az USA-ban és Kanadában MilliporeSigma néven működik.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Németország és/vagy leányvállalatai. Minden jog fenntartva. Merck és Sigma-Aldrich a Merck KGaA, Darmstadt, Németország, védjegyei. Minden más védjegy megfelelő tulajdonosa birtokában van. A védjegyekre vonatkozó információ rendelkezésre áll nyilvánosan elérhető forrásokból.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001

REF

Mikroskopija

Kongo sarkanā iekrāsošanas komplekts

Komplekts amiloīda noteikšanai pēc Haimena metodes

Drīkst lietot tikai speciālisti

IVD

In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce

CE

Paredzētā lietošana

"Kongo sarkanā iekrāsošanas komplektu – amiloīda noteikšanai pēc Haimena metodes" izmanto cilvēka medicīnisko šūnu diagnostikai un tas kalpo cilvēka izcelsmes paraugu materiāla histoloģiskai izmeklēšanai. Tas ir lietošanai gatavs iekrāsošanas šķīdums, kas, izmantojot kopā ar citiem *in vitro* diagnostikas produktiem no mūsu piedāvājumu klāsta, ļauj novērtēt mērķa struktūras diagnostikas nolūkos (fiksējot, iestrādājot, iekrāsojot, pretkrāsojot, nostiprinot) cilvēka histoloģisko paraugu materiālos, piemēram, nieru, zarnu vai aknu histoloģiskajos griezumus.

Kongo sarkanā iekrāsošanas komplekts amiloīda noteikšanai pēc Haimena metodes satur visus nepieciešamos reaģentus, lai iekrāsotu amiloīdu histoloģiskajos audos.

Nekrāsotas struktūras ir salīdzinoši zema kontrasta, un tās ir ļoti grūti atšķirt gaismas mikroskopā. Attēli, kas izveidoti, izmantojot iekrāsošanas šķīdumus, palīdz pilnvarotam un kvalificētam pētniekam šādos gadījumos labāk noteikt formu un struktūru. Lai noteiktu galīgo diagnozi, var būt nepieciešami papildu izmeklējumi.

Principis

Amiloīds ir homogēna struktūra, ko veido olbaltumvielu fibrillas (katra no tām ir 8 līdz 15 nm diametrā), ko var iekrāsot ar eozinofiliem un kas, piemēram, amiloidozes gadījumā veido nogulsnes starpspūnu telpā. Visas amiloīda nogulsnes satur līdzīgas olbaltumvielu šķiedras, kas ir noturīgas pret organisma dabiskajiem aizsargmehānismiem un kuras, kad tās ir izveidojušās, nav iespējams likvidēt.

Kongo sarkanā iekrāsošanas principa pamatā ir ūdeņraža "tiltu" saites ar ogļhidrātu komponentu substrātā. Kongo sarkanais ir anjonu krāsviela, kas spēj nogulsnēties amiloīda fibrillās, kuras tad polarizētā gaismā uzrāda uzkrītošu dihiroismu. Ar Kongo sarkano iekrāsotie audi caurlaides gaismas mikroskopā izskatās oranži sarkani, bet polarizētā gaismā amiloīda nogulsnes parādās kā spilgti zaļi dubultās refrakcijas attēli uz tumša fona. Citas ar Kongo sarkano iekrāsotās struktūras, piemēram, kolagēns, polarizētā gaismā netiek vizualizētas.

Krāsošana var būt tehniski sarežģīta, ja izmantotie parafina griezumai ir pārāk plāni (< 5 µm) vai ja audi tiek pārāk stipri iekrāsoti.

Parauga materiāls

Kā izejmateriālu izmanto formalinā fiksētu, parafinā iestrādātu audu griezumus (5 – 6 µm biezi parafina griezumai).

Reaģenti

Atsauces Nr. 1.01641.0001

Kongo sarkanā iekrāsošanas komplekts

Komplekts amiloīda noteikšanai pēc Haimena metodes

Iepakojuma sastāvdaļas:

Krāsošanas komplektā ietilpst

Reaģents Nr. 1: Kongo sarkanā šķīdumam 100 ml

Reaģents Nr. 2: KOH šķīdumam 2 × 100 ml

Nepieciešams arī:

Atsauces Nr. 1.05174 Hematoksilīna šķīdums, modificēts 500 ml, 1 l, 2,5 l saskaņā ar Gill III metodi mikroskopijai

Atsauces Nr. 1.05175 Hematoksilīna šķīdums, modificēts 500 ml, 2,5 l saskaņā ar Gill II metodi mikroskopijai

Parauga sagatavošana:

Paraugu ņemšana jāveic kvalificētam personālam.

Visi paraugi jāapstrādā, izmantojot modernākās tehnoloģijas.

Visiem paraugiem jābūt skaidri marķētiem.

Paraugu ņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti.

Sekojiēt ražotāja norādījumiem par uzklāšanu / lietošanu.

Lietojot attiecīgos palīgreaģentus, jāievēro attiecīgās lietošanas instrukcijas.

Deparafinējiet un rehidratējiet griezumus parastajā veidā.

Reaģentu sagatavošana

Kongo sarkanā iekrāsošanas komplekta – amiloīda noteikšanai pēc Haimena metodes reaģenti, kas tiek lietoti krāsošanai ir gatavi lietošanai, šķīdumu atšķaidīšana nav nepieciešama un tikai pasliktina iekrāsošanas rezultātu un to stabilitāti.

Reaģentu Nr. 2 (KOH šķīdumu) joprojām var izmantot, un tas nodrošina labus rezultātus, pat tad, ja tas ir kļuvis rozā.

Jau izmantoto KOH šķīdumu var atkārtoti iepildīt PE pudelē virs filtra.

Procedūra

Iekrāsošana krāsošanas traukā

Deparafinējiet histoloģiskos priekšmetstiklītus parastajā veidā un rehidratējiet dilstošā spirta sērijā.

Lai izvairītos no nevajadzīgas šķīdumu savstarpējas piesārņošanas, pēc atsevišķiem iekrāsošanas posmiem priekšmetstiklīti ir labi jānoslauc.

Lai garantētu optimālu iekrāsošanas rezultātu, ir jāievēro norādītie laiki.

Priekšmetstiklītis ar histoloģisko paraugu	
Destilēts ūdens	1 min
Hematoksilīna šķīdums, modificēts saskaņā ar Gill II metodi vai Hematoksilīna šķīdums, modificēts saskaņā ar Gill III metodi	5 min
Tekošs krāna ūdens	5 min
Reaģents Nr. 1 (Kongo sarkanā šķīdums)	10 min
Tekošs krāna ūdens	5 min
Reaģents Nr 2 (KOH šķīdums)	30 – 40 sec
Tekošs krāna ūdens	5 min
Etanols 96%	30 sec
Etanols 96%	30 sec
Etanols 100%	1 min
Etanols 100%	1 min
Ksilols vai Neo-Clear™	5 min
Ksilols vai Neo-Clear™	5 min
Nostipriniet Neo-Clear™ samitrinātos priekšmetstiklītus ar Neo-Mount™ vai ksilolā samitrinātos priekšmetstiklītus ar, piemēram, Entellan™ new un segstiklu.	

Pēc dehidratācijas (augošas spirta sērijas) un attīrīšanas ar ksilolu vai Neo-Clear™ histoloģiskos paraugus var nostiprināt ar bezūdens nostiprināšanas līdzekļiem (piemēram, Neo-Mount™, Entellan™, DPX new vai Entellan™ new) un segstiklu, un pēc tam tos var uzglabāt.

Rezultāts

Kodoli	tumši zilā krāsā
Amiloīds	
izstarotā gaismā	rozā līdz sarkanā krāsā
polarizētā gaismā	zaļā krāsā, metahromāzija
Saistaudi, kolagēns	gaiši sarkanā krāsā

Problēmu novēršana

Pārāk vāja amiloīda fibrillu iekrāsošana

Krāsošana var būt tehniski sarežģīta galvenokārt tad, ja izmantotie parafina griezumai ir pārāk plāni (< 5 µm), jo šādā gadījumā nav pieejams pietiekami daudz amiloīda, lai uzsūktu Kongo sarkano. Tas var radīt kļūdaini negatīvus rezultātus. Šā iemesla dēļ krāsošanai jāņem parafina griezumai > 5 µm.

Ja dehidratācijas posmā notiek pārāk intensīva inkubācija ar etanolu, Kongo sarkanā krāsviela var tikt izskalota no parauga audiem, kā rezultātā paraugs kļūst bezkrāsains. Protokolā norādītais dehidratācijas laiks ir stingri jāievēro, lai novērstu kļūdaini negatīvu rezultātu iegūšanu.

Tehniskās piezīmes

Izmantotajam mikroskopam jāatbilst medicīniskās diagnostikas laboratorijas prasībām. Lietojot histoprocessorus un automātiskās krāsošanas sistēmas, ievērojiet sistēmas un programmatūras piegādātāja sniegtos lietošanas norādījumus.

Analītiskās veikspējas raksturlielumi

"Kongo sarkanā iekrāsošanas komplekts" iekrāso un tādējādi vizualizē bioloģiskās struktūras, kā aprakstīts šīs LI nodaļā "Rezultāts". Produktu drīkst lietot tikai pilnvarotas un kvalificētas personas, tas cita starpā attiecas uz paraugu un reaģentu sagatavošanu, paraugu apstrādi, histoprocēsēšanu, lēmumu pieņemšanu par piemērotām kontrolēm un citiem jautājumiem.

Produkta analītiskās īpašības apstiprina, testējot katru ražošanas partiju. Regulāra veiksmīga dalība starptautiskos starplaboratoriju testos sniedz papildu un nesaistītu analītiskā specifiskuma apstiprinājumu.

Attiecībā uz turpmāk minēto iekrāsojumu analītiskā veikspēja tika apstiprināta attiecībā uz produkta specifiskumu, jutīgumu un atkārtojamību ar 100% rādītāju:

	Starpanalīžu specifiskums	Starpanalīžu jutība	Analīžu specifiskums analīzes laikā	Analīžu jutība analīzes laikā
Kongo sarkanā iekrāsošana				
Kodoli	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloīds (izstarotā gaismā)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloīds (polarizētā gaismā)	8/8	8/8	6/6	6/6
Saistaudi	8/8	8/8	6/6	6/6
Kolagēns	8/8	8/8	6/6	6/6

Analītiskās darbības rezultāti

Iekšējo (veikts ar vienu un to pašu partiju) un starppartiju (veikts ar dažādām partijām) datu sarakstā ir norādīts pareizi iekrāsoto struktūru skaits attiecībā pret veikto testu skaitu.

Šī veikspējas novērtējuma rezultāti apstiprina, ka izstrādājums ir piemērots paredzētajam lietojumam un darbojas droši.

Diagnostika

Diagnozi drīkst veikt tikai pilnvarots un kvalificēts personāls. Jāizmanto derīgas nomenklatūras. Šo metodi var papildus izmantot cilvēku diagnostikā. Turpmākie testi jāizvēlas un jāveic saskaņā ar atzītām metodēm. Lai izvairītos no nepareiza rezultāta, katru reizi jāveic atbilstošas pārbaudes. Lai ar pārliecību identificētu amiloīdu, pēc konstatējumiem atstarotā gaismā vienmēr jāveic materiāla pārbaude polarizētā gaismā.

Glabāšana

Uzglabāt Kongo sarkanā iekrāsošanas komplektu amiloīda noteikšanai saskaņā ar Haimena metodi temperatūrā no +15 °C līdz +25 °C.

Glabāšanas laiks

Kongo sarkanā iekrāsošanas komplektu amiloīda noteikšanai saskaņā ar Haimena metodi var lietot līdz norādītajam derīguma termiņam. Pēc pudeles pirmās atvēršanas saturu var lietot līdz norādītajam derīguma termiņam, ja to uzglabā +15 °C līdz +25 °C temperatūrā. Reaģentu Nr. 2 (KOH šķīdumu) joprojām var izmantot, un tas nodrošina labus rezultātus, pat tad, ja tas ir kļuvis rozā. Jau izmantoto KOH šķīdumu var atkārtoti iepildīt PE pudelē virs filtra. Pudeles vienmēr jātur cieši noslēgtas, lai izvairītos no tajās esošā spirta iztvaikošanas un tādējādi novērstu arī krāsvielas koncentrācijas palielināšanos.

Ietilpība

Ar iepakojumu pietiek 50 lietojumiem.

Papildu norādījumi

Tikai izpētes mērķiem.

Lai izvairītos no kļūdām, lietošanu drīkst veikt tikai kvalificēts personāls. Jāievēro valsts darba drošības un kvalitātes nodrošināšanas vadlīnijas. Jāizmanto atbilstoši standartam aprīkoti mikroskopi.

Pamata aizsardzība pret infekcijām

Jāveic efektīvi pasākumi aizsardzībai pret infekciju saskaņā ar laboratorijas vadlīnijām.

Likvidēšanas norādījumi

Iepakojums jāiznīcina saskaņā ar spēkā esošajiem likvidēšanas norādījumiem. Izlietotie šķīdumi un šķidumi, kuru derīguma termiņš ir beidzies, jālikvidē kā īpaši atkritumi saskaņā ar vietējiem norādījumiem. Informāciju par likvidēšanu var iegūt ātrās saites sadaļā "Padomi mikroskopijas produktu likvidēšanai" vietnē www.microscopy-products.com. ES ir spēkā pašlaik piemērojamā REGULA (EK) Nr. 1272/2008 par vielu un maisījumu klasificēšanu, marķēšanu un iepakojšanu, ar ko groza un atceļ Direktīvas 67/548/EEK un 1999/45/EK un groza Regulu (EK) Nr. 1907/2006.

Paligreaģenti

Atsauces Nr.	1.00496	4% formaldehīda šķīdums, buferēts, pH 6,9 (aptuveni 10% formalīna šķīdums) histoloģijai	350 ml un 700 ml (pudelē ar platu kakliņu), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Atsauces Nr.	1.00579	DPX new bezūdens nostiprināšanas līdzeklis mikroskopijai	500 ml
Atsauces Nr.	1.00869	Entellan™ new segslīdnim mikroskopijai	500 ml
Atsauces Nr.	1.00974	Etanols, denaturēts ar aptuveni 1% metilētilketona analīzei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Atsauces Nr.	1.04699	Imersijas eļļa mikroskopijai	100 ml pilināmā pudele, 100 ml, 500 ml
Atsauces Nr.	1.05174	Hematoksilīna šķīdums, modificēts saskaņā ar Gill III metodi mikroskopijai	500 ml, 1 l, 2,5 l
Atsauces Nr.	1.05175	Hematoksilīna šķīdums, modificēts saskaņā ar Gill II metodi mikroskopijai	500 ml, 2,5 l
Atsauces Nr.	1.07961	Entellan™ new ātras nostiprināšanas līdzeklis mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Atsauces Nr.	1.08298	Ksilols (izomēru maisījums) histoloģijai	4 l
Atsauces Nr.	1.09016	Neo-Mount™ bezūdens nostiprināšanas līdzeklis mikroskopijai	100 ml pilināmā pudele, 500 ml
Atsauces Nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksilola aizstājējs) mikroskopijai	5 l
Atsauces Nr.	1.11609	Histosec™ pastilas sacietēšanas temperatūra 56-58 °C iestrādes līdzeklis histoloģijai	1 kg, 10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg
Atsauces Nr.	1.15161	Histosec™ pastilas (bez DMSO) sacietēšanas temperatūra 56-58 °C iestrādes līdzeklis histoloģijai	10 kg (4 × 2,5 kg), 2 kg

Bīstamības klasifikācija

Atsauces Nr. 1.01641.0001
Ievērojiet uz etiķetes norādīto bīstamības klasifikāciju un drošības datu lapā sniegto informāciju. Drošības datu lapa ir pieejama tīmekļa vietnē un pēc pieprasījuma. UZMANĪBU! Satur CMR vielas. Ievērojiet drošības datu lapā sniegtos drošības norādījumus.

Produktu galvenās sastāvdaļas

Atsauces Nr.	1.01641.0001
Reaģents Nr. 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l = 0,93 kg	
Reaģents Nr. 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l = 0,84 kg	

Vispārīgas piezīmes

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns negadījums, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim un savas valsts iestādei.

Literatūra

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



- H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.
H290: Var kodīgi iedarboties uz metāliem.
H315: Kairina ādu.
H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.
H350: Var izraisīt vēzi.
- P202: Neizmantojot pirms nav izlasīti un saprasti visi apzīmējumi.
P210: Sargāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atklātas uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēķēt.
P233: Tvertni stingri noslēgt.
P303 + P361 + P353: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): Nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni.
P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalot.
P308 + P313: Ja nokļūst saskarē vai saistīts ar to: lūdziet medicīnu palīdzību.

Reaģents Nr. 1:
H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.
H350: Var izraisīt vēzi.

Reaģents Nr. 2:
H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.
H290: Var kodīgi iedarboties uz metāliem.
H315: Kairina ādu.
H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-01	Sākotnējā versija ar pārskatījumu vēstures pievienošanu

Izlasiet lietošanas noteikumus

Ražotājs

Kataloga numurs

Sērijas kods

Uzmanību, skatiet pavaddokumentus

Izmantojot līdz DD.MM.GGGG.

Temperatūras ierobežojumi

Status: 2024-Jul-01

1.01641.0001 **REF**

Mikroskopija

Kongo raudonojo dažymo rinkinys

Rinkinys amiloidui aptikti pagal Highmaną

Tik profesionaliam naudojimui

IVD Diagnostikos *in vitro* medicinos priemonė

Numatytoji paskirtis

Šis Kongo raudonojo dažymo rinkinys amiloidui aptikti pagal Highmaną naudojamas žmogaus medicininei ląstelinei diagnostikai atliekant žmogaus kilmės mėginių medžiagos histologinius tyrimus. Tai yra paruoštas naudoti dažymo rinkinys, naudojamas su kitais diagnostikai *in vitro* skirtais mūsų asortimento produktais, kai diagnostikos tikslais (fiksatoje, įlietoje, dažytoje, kontrastingai dažytoje, padengtoje) histologinių mėginių medžiagoje pavyzdžiui, audinių histologiniuose pjūviuose (pvz., inkstų, žarnyno arba kepenų), reikia įvertinti tikslines struktūras.

Šiame Kongo raudonojo dažymo rinkinyje amiloidui aptikti pagal Highmaną yra visi reagentai, reikalingi amiloidui nudažyti histologiniuose audiniuose. Nedažytų struktūrų kontrastas santykinai prastas ir apžiūrint šviesiniu mikroskopu jas yra ypač sunku atskirti. Tokiais atvejais naudojant dažymo tirpalus gauti vaizdai įgaliotam ir kvalifikuotam tyrėjui padeda geriau apibrėžti formą ir struktūrą. Galutinei diagnozei nustatyti gali prireikti atlikti daugiau tyrimų.

Principas

Amiloidas yra homogeniška struktūra, sudaryta iš baltyminių fibrilių (kurių kiekvienos skersmuo yra nuo 8 iki 15 nm), kurias galima nudažyti eozinofilinėmis spalvomis ir kurios, pavyzdžiui, sergant amiloidoze, sudaro nuosėdas tarpląstelinėje erdvėje. Visose amiloido sancaupose yra panašių baltyminių skaidulų, kurios yra atsparios natūraliems organizmo gynybos mechanizms ir kurių susiformavus negalima pašalinti.

Kongo raudonojo dažymo principas pagrįstas vandenilinio tiltelio ryšių su substrato angliavandenių komponentu susidarymu. Kongo raudonas yra anijoninis dažas ir gali nusėsti amiloido skaidulose, kurios poliarizuotoje šviesoje pasižymi ryškiu dichroizmu. Kongo raudonuoju dažytas audinys praleidžiamosios šviesos mikroskope atrodo oranžiškai raudonas; tačiau poliarizuotoje šviesoje amiloido sancaupos tamsiame fone matomos kaip ryškiai žali dvigubos refrakcijos vaizdai. Tačiau kitos struktūros, taip pat nudažytos Kongo raudonuoju, pvz., kolagenas, poliarizuotoje šviesoje nėra rodomos.

Dažymas gali būti techniškai sudėtingas, kai naudojami per ploni parafino pjūviai (< 5 µm) arba kai audinys yra per stipriai nudažytas.

Mėginio medžiaga

Kaip pradinė medžiaga naudojamos formaline fiksuotų, į parafiną įlietų audinių nuopjovos (5–6 µm storio parafino nuopjovos).

Reagentai

Kat. Nr. 1.01641.0001
Kongo raudonojo dažymo rinkinys
Rinkinys amiloidui aptikti pagal Highmaną

Pakuotės komponentai:

Dažymo rinkinyje yra
1 reagentas: Kongo raudonojo tirpalas 100 ml
2 reagentas: KOH tirpalas 2 × 100 ml

Taip pat reikia:

Kat. Nr. 1.05174 Hematoksilino tirpalo, modifikuoto pagal Gill III mikroskopijai 500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. Nr. 1.05175 Hematoksilino tirpalo, modifikuoto pagal Gill II mikroskopijai 500 ml, 2,5 l

Mėginio paruošimas

Mėginį turi paimti kvalifikuoti darbuotojai.

Visus mėginius reikia apdoroti naudojant pažangiausias technologijas. Visi mėginiai turi būti aiškiai paženklinėti. Mėginiams paimti ir jiems paruošti būtina naudoti tinkamus instrumentus. Vadovaukitės gamintojo pateiktomis taikymo ir naudojimo instrukcijomis. Naudojant atitinkamus pagalbinus reagentus būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Įprastais būdais iš nuopjovų pašalinkite parafiną ir jas rehidruokite.

Reagento paruošimas

Dažymui naudojami Kongo raudonojo dažymo rinkinio amiloidui aptikti pagal Highmaną reagentai yra paruošti naudoti, tirpalų skiesti nereikia, dėl to tik pablogėja dažymo rezultatas ir jų stabilumas.

2 reagentą (KOH tirpalą) vis dar galima naudoti ir gauti gerų rezultatų, net kai jis tampa rožinės spalvos. Panaudotą KOH tirpalą galima pakartotinai įpilti į PE buteliuką per filtrą.

Procedūra

Dažymas dažymo kameroje

Įprastu būdu iš histologinių preparatų pašalinkite parafiną ir rehidruokite juos mažėjančiomis alkoholio koncentracijomis.

Siekiant išvengti nereikalingos tirpalų kryžminės taršos, preparatus po kiekvieno dažymo etapo reikia gerai nuvarvinti.

Norint gauti tinkamą dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto dažymo laiko.

Histologinio mėginio preparatas	
Distiliuotas vanduo	1 min.
Hematoksilino tirpalas, modifikuotas pagal Gill II arba Hematoksilino tirpalas, modifikuotas pagal Gill III	5 min.
Tekantis vandentiekio vanduo	5 min.
1 reagentas (Kongo raudonojo tirpalas)	10 min.
Tekantis vandentiekio vanduo	5 min.
2 reagentas (KOH tirpalas)	30–40 sek.
Tekantis vandentiekio vanduo	5 min.
Etanolis 96 %	30 sek.
Etanolis 96 %	30 sek.
Etanolis 100 %	1 min.
Etanolis 100 %	1 min.
Ksilenas arba „Neo-Clear™“	5 min.
Ksilenas arba „Neo-Clear™“	5 min.
„Neo-Clear™“ sudrėkintus preparatus padenkite „Neo-Mount™“ arba ksileną sudrėkintus preparatus padenkite, pvz., „Entellan™ new“, ir uždenkite stikleliu.	

Po dehidratacijos (didėjančiomis alkoholio koncentracijomis) ir skaidrinimo ksileną ar „Neo-Clear™“, histologinius mėginius galima padengti nevandeninėmis dengiamosiomis medžiagomis (pvz., „Neo-Mount™“, „Entellan™“, DPX new arba „Entellan™ new“) ir uždengus stikleliais padėti saugoti.

Rezultatas

Branduoliai	tamsiai mėlyna
Amiloidas	
praleidžiamose šviesoje poliarizuotoje šviesoje	nuo rožinės iki raudonos spalvos žaliąjį metachromaziją
Jungiamasis audinys, kolagenas	šviesiai raudona

Trikdžių šalinimas

Amiloido fibrilių dažymas per silpnas

Dažymas gali būti techniškai sudėtingas visų pirma tada, kai naudojami per ploni parafino pjūviai (< 5 µm), nes tokiu atveju nėra pakankamai amiloido, kad jis sugertų Kongo raudonąjį. Dėl to gali būti gauti klaidingai neigiami rezultatai. Todėl dažymui turėtų būti imami > 5 µm parafino pjūviai.

Jei dehidratacijos etanolio etapo metu pernelyg intensyviai inkubuojama, Kongo raudonas dažas gali būti išplautas iš mėginio audinio, todėl mėginys praranda spalvą. Siekiant išvengti klaidingai neigiamų rezultatų, reikėtų griežtai laikytis protokole nurodyto dehidratacijos laiko.

Techninės pastabos

Naudojamas mikroskopas turi atitikti medicininei diagnostikos laboratorijai keliamus reikalavimus. Naudojami histologinio apdorojimo sistemos ir automatinės dažymo sistemos, vadovaukitės sistemos ir programinės įrangos tiekėjo pateiktomis instrukcijomis.

Analitinės eksploatacinės savybės

Kongo raudonojo dažymo rinkinys nudažo ir taip rodo biologines struktūras, kaip aprašyta šių naudojimo instrukcijų skyriuje „Rezultatas“. Procedūras naudojant produktą, įskaitant, be kita ko, mėginio ir reagento paruošimą, mėginio tvarkymą, histologinį apdorojimą, sprendimus dėl tinkamų kontrolinių ir kt., turėtų atlikti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys.

Produkto analitinės eksploatacinės savybės patvirtino kiekvienos produkto serijos tyrimai. Sėkmingas reguliarus dalyvavimas tarptautiniuose

tarplaboratoriniuose tyrimuose pateikia papildomą ir nepriklausomą analitinio specifiškumo patvirtinimą.

Įvertinus toliau nurodytų dažų analitines eksploatacines savybes buvo patvirtintas 100 % specifiškumas, jautrumas ir atkartojamumas.

	Specifiškumas tarp testų	Jautrumas tarp testų	Testo specifiškumas	Testo jautrumas
Dažymas Kongo raudonuoju				
Branduoliai	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloidas (praleidžiamoje šviesoje)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloidas (poliarizuotoje šviesoje)	8/8	8/8	6/6	6/6
Jungiamasis audinys	8/8	8/8	6/6	6/6
Kolagenas	8/8	8/8	6/6	6/6

Analitinių eksploatacinių savybių rezultatai

Testo (tos pačios serijos) ir palyginimo tarp testų (skirtingų serijų) duomenys nurodo tinkamai nudažytų struktūrų skaičių atsižvelgiant į atliktų testų skaičių.

Šio eksploatacinių savybių vertinimo rezultatai patvirtina, kad produktas patikimas ir tinkamas naudoti numatytajai paskirčiai.

Diagnostika

Diagnozes gali nustatyti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai. Būtina naudoti galiojančias nomenklatūras. Šį metodą žmonių diagnostikai galima naudoti kaip papildomą priemonę. Laikantis pripažintų metodų būtina pasirinkti ir atlikti kitus tyrimus. Siekiant išvengti klaidingų rezultatų, kiekvieną kartą naudojant produktą reikia imtis tinkamų kontrolės priemonių.

Norint tiksliai nustatyti amiloidą, po radinių, gautų praleidžiamosios šviesoje, visada reikia apžiūrėti medžiagą poliarizuotoje šviesoje.

Laikymas

Laikykite Kongo raudonojo dažymo rinkinį amiloidui nustatyti pagal Highmaną temperatūroje nuo +15 °C iki +25 °C.

Tinkamumo naudoti laikas

Kongo raudonojo dažymo rinkinys amiloidui nustatyti pagal Highmaną gali būti naudojamas iki nurodytos tinkamumo naudoti datos.

Pirmą kartą atidarius buteliuką, jo turinį galima naudoti iki nurodytos tinkamumo naudoti datos, jei jis laikomas 15–25 °C temperatūroje.

2 reagentą (KOH tirpalą) vis dar galima naudoti ir gauti gerų rezultatų, net kai jis tampa rožinės spalvos.

Panaudotą KOH tirpalą galima pakartotinai įpilti į PE buteliuką per filtrą.

Buteliukus visada reikia laikyti sandariai uždarytus, kad būtų išvengta juose esančio alkoholio garavimo ir dėl to atsirandančio dažų koncentracijos padidėjimo.

Talpa

Pakuotės pakanka atlikti iki 50 procedūrų.

Papildomi nurodymai

Tik profesionaliam naudojimui.

Siekiant išvengti klaidų, produktą turi naudoti tik kvalifikuoti darbuotojai. Būtina laikytis šalyje taikomų darbo saugos ir kokybės užtikrinimo rekomendacijų.

Būtina naudoti standartų reikalavimus atitinkančius mikroskopus.

Apsauga nuo infekcijos

Laikantis laboratorijos rekomendacijų būtina taikyti efektyvias apsaugos nuo infekcijų priemones.

Atliekų šalinimo nurodymai

Pakuotę reikia šalinti laikantis galiojančių šalinimo rekomendacijų.

Panaudotus tirpalus ir tirpalus, kurių tinkamumo naudoti laikas baigėsi, reikia šalinti kaip specialiąsias atliekas laikantis vietos rekomendacijų. Informacijos apie šalinimą galima rasti svetainėje www.microscopy-products.com, paspaudus sparčiąją nuorodą „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Patarimai dėl mikroskopijai naudotų produktų šalinimo). Europos Sąjungoje šiuo metu taikomas Reglamentas (EB) Nr. 1272/2008 dėl cheminių medžiagų ir mišinių klasifikavimo, ženklinimo ir pakavimo, iš dalies keičiantis ir panaikinantis direktyvas 67/548/EEB bei 1999/45/EB ir iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006.

Pagalbiniai reagentai

Kat. Nr.	1.00496	Formaldehido tirpalas 4 %, buferinis, pH 6,9 (maždaug 10 % formalino tirpalas) histologijai	350 ml ir 700 ml (buteliuke plačiu kakleliu), 5 l, 10 l, 10 l „Titripac®“
Kat. Nr.	1.00579	DPX new nevandeninė dengiamoji terpė mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr.	1.00869	„Entellan™ new“ dengiamajam sluoksniui mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr.	1.00974	Denatūruotas etanolis su maždaug 1 % metiletiketonu analizei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.04699	Imersinis aliejus mikroskopijai	100 ml buteliukas su lašintuvu, 100 ml, 500 ml
Kat. Nr.	1.05174	Hematoksilino tirpalo, modifikuoto pagal Gill III mikroskopijai	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.05175	Hematoksilino tirpalo, modifikuoto pagal Gill II mikroskopijai	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.07961	Entellan™ new greito padengimo terpė mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. Nr.	1.08298	Ksilenas (izomerų mišinys) histologijai	4 l
Kat. Nr.	1.09016	Neo-Mount™ bevandenė dengiamoji terpė mikroskopijai	100 ml buteliukas su lašintuvu, 500 ml
Kat. Nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksileno pakaitalas) mikroskopijai	5 l
Kat. Nr.	1.11609	Histosec™ pastilės, kietėjimo temperatūra 56–58 °C, įterpimo medžiaga histologijai	1 kg, 10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg
Kat. Nr.	1.15161	Histosec™ pastilės (be DMSO), kietėjimo temperatūra 56–58 °C, įterpimo medžiaga histologijai	10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg

Pavojaus klasifikavimas

Kat. Nr. 1.01641.0001

Vadovaukitės etiketėje nurodytu pavojaus klasifikavimu bei saugos duomenų lape pateikta informacija.

Saugos duomenų lapas prieinamas interneto svetainėje ir pateikiamas paprasčiau.

ĮSPĖJIMAS! Sudėtyje yra kancerogeninių, mutageninių, toksiškų reprodukcijai medžiagų (CMR). Laikykites saugos duomenų lape pateiktų atitinkamų saugos nurodymų.

Pagrindiniai produkto komponentai

Kat. Nr.	1.01641.0001
1 reagentas	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l = 0,93 kg	
2 reagentas	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l = 0,84 kg	

Bendroji pastaba

Jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo šalies institucijai.

Literatūra

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Labai degūs skystis ir garai.
H290: Gali ėsdinti metalus.
H315: Dirgina odą.
H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.
H350: Gali sukelti vėžį.

P202: Nenaudoti, jeigu neperskaityti ar nesuprasti visi saugos įspėjimai.
P210: Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių, karštų paviršių, žiežirbų, atviros liepsnos ir kitų uždegimo šaltinių. Nerūkyti.
P233: Talpyklą laikyti sandariai uždarytą.
P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu.
P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.
P308 + P313: Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją.

1 reagentas:
H225: Labai degūs skystis ir garai.
H350: Gali sukelti vėžį.

2 reagentas:
H225: Labai degūs skystis ir garai.
H290: Gali ėsdinti metalus.
H315: Dirgina odą.
H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-01	Pradinė versija su peržiūrų istorijos įžanga



Skaityti naudojimo instrukcijas



Gamintojas



Katalogo numeris



Partijos kodas



Įspėjimas, skaityti pridedamus dokumentus



Tinka iki:
MMMM-mm-dd



Temperatūros ribos

Status: 2024-Jul-01

1.01641.0001

REF

Mikroskopi

Kongorødt fargesett

Sett for påvisning av amyloid iht. Highman

Kun til profesjonell bruk

IVD

In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr



Tiltenkt formål

«Kongorødt fargesett – sett for påvisning av amyloid iht. Highman» brukes til humanmedisinsk cellediagnostikk og i histologisk undersøkelse av prøvemateriale av human opprinnelse. Det er et bruksklart fargesett som gjør det mulig å evaluere målstrukturer for diagnostiske formål (ved fiksering, innstøpning, farging, motfarging, montering) i histologisk prøvemateriale, for eksempel histologiske snitt av f.eks. nyre, tarm eller lever, når det brukes sammen med andre *in vitro*-diagnostiske produkter fra vår portefølje.

«Kongorødt fargesett – sett for påvisning av amyloid iht. Highman» inneholder alle reagensene som trengs for farging av amyloid i histologisk vev.

Ufargede strukturer er relativt lave i kontrast og er særdeles vanskelige å skille under lysmikroskopet. Bildene som er opprettet ved hjelp av fargeløsningene, hjelper den autoriserte og kvalifiserte utprøveren med å definere formen og strukturen bedre i slike tilfeller. Ytterligere undersøkelser kan være nødvendig for å stille en endelig diagnose.

Prinsipp

Amyloid er en homogen struktur bestående av proteinfibriller (hver mellom 8 og 15 nm i diameter) som kan farges eosinofilt, f.eks. hvis amyloidose danner avsetninger i cellemellomrommet. Alle avsetninger av amyloid inneholder lignende proteinfibriller som er resistente mot kroppens naturlige forsvarsmekanismer, og som ikke kan elimineres når de først er dannet.

Prinsippet med Kongorødt farging er basert på dannelsen av hydrogenbindinger med karbohydratkomponenten i substratet. Kongorødt er et anionisk fargestoff og har evnen til å binde seg i amyloidfibriller, som deretter viser en iøynefallende dikroisme under polarisert lys. Vevet farget med Kongorødt opptrer som oransje-rødt under mikroskopet med overført lys. Under polarisert lys vises imidlertid amyloidavleiringene som bilder med svært klar grønn med dobbel refraksjon mot en mørk bakgrunn. Andre strukturer blir også farget med Kongorødt, for eksempel kollagen, men kommer ikke til syne under polarisert lys.

Farging kan være teknisk vanskelig når parafinsnittene som brukes, er for tynne (<5 µm) eller når vevet er for kraftig overfarget.

Prøvemateriale

Snitt av formalinfiksert, parafinnstøpt vev brukes som utgangsmateriale (5–6 µm tykke parafinsnitt).

Reagenser

Kat.nr. 1.01641.0001

Kongorødt fargesett

Sett for påvisning av amyloid iht. Highman

Pakkekomponenter:

Fargesettet inneholder

Reagens 1: Kongorødt løsning	100 ml
Reagens 2: KOH-løsning	2 × 100 ml

Også nødvendig:

Kat.nr. 1.05174	Hematoksylin løsning modifisert i.h.t. Gill III for mikroskopi	500 ml, 1 l, 2,5 l
-----------------	--	--------------------

Kat.nr. 1.05175	Hematoksylin løsning modifisert i følge Gill II for mikroskopi	500 ml, 2,5 l
-----------------	--	---------------

Klargjøring av prøver

Prøvetakingen skal utføres av kvalifisert personell.

Alle prøver skal behandles ved hjelp av toppmoderne teknologi.

Alle prøver skal være tydelig merket.

Egnede instrumenter skal brukes til prøvetaking og klargjøring. Følg produsentens instruksjoner for applikasjon/bruk.

Når du bruker de tilsvarende hjelpereagensene, må du følge den tilhørende bruksanvisningen.

Avparafiniser og rehydrer seksjoner på konvensjonell måte.

Klargjøring av reagens

Reagensen i Kongorødt fargesett – sett for påvisning av amyloid iht. Highman er klar til bruk. Det er ikke nødvendig å fortynne løsningen, og det medfører bare en forringelse av fargerresultatet og stabiliteten.

Reagens 2 (KOH-løsning) kan fortsatt brukes og gir gode resultater, selv når den har blitt rosa.

Den allerede brukte KOH-løsningen kan etterfylles i PE-flasken over et filter.

Fremgangsmåte

Farging i fargecellen

Avparafiniser histologiske objektglass på konvensjonell måte, og rehydrer i en synkende alkoholholdig serie.

Objektglassene skal dryppe godt av etter de enkelte fargetrinnene som et tiltak for å unngå unødvendig krysskontaminering av løsninger.

De angitte tidene skal overholdes for å garantere et optimalt fargerresultat.

Objektglass med histologisk prøve	
Destillert vann	1 min
Hematoksylinløsning modifisert iht. Gill II eller Hematoksylinløsning modifisert iht. Gill III	5 min
Rennende springvann	5 min
Reagens 1 (Kongorødt løsning)	10 min
Rennende springvann	5 min
Reagens 2 (KOH-løsning)	30–40 sek
Rennende vann fra springen	5 min
Etanol 96 %	30 sek
Etanol 96 %	30 sek
Etanol 100 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Xylen eller Neo-Clear™	5 min
Xylen eller Neo-Clear™	5 min
Monter Neo-Clear™-fuktede objektglass med Neo-Mount™- eller xylen-fuktede objektglass med f.eks. Entellan™ new og dekkglass.	

Etter dehydrering (stigende alkoholserie) og klargjøring med xylen eller Neo-Clear™ kan histologiske prøver monteres med ikke-vandige monteringsmedier (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™, DPX new eller Entellan™ new) og et dekkglass, og deretter oppbevares.

Resultat

Kjerner	mørkeblå
Amyloid	
i overført lys	rosa til rød
i polarisert lys	grønn metakromasi
Bindevev, kollagen	lyserødt

Feilsøking

Fargingen av amyloidfibriller er for svak

Farging kan fremfor alt være teknisk vanskelig når parafinsnittene som brukes, er for tynne (<5 µm), fordi det i et slikt tilfelle ikke er tilstrekkelig amyloid tilgjengelig til å ta opp Kongorødt. Dette kan gi falske negative resultater. Parafinsnitt på >5 µm bør derfor brukes til farging.

Ved overintensiv inkubasjon med etanol i dehydreringstrinnet, kan Kongorødt-fargestoffet vaskes ut fra prøvevevet, noe som resulterer i at prøven mister fargen. Inkubasjonstidene som angis i protokollen, skal overholdes til punkt og prikke for å unngå falske negative resultater.

Tekniske notater

Mikroskopet som brukes, skal oppfylle kravene til et medisinsk diagnostisk laboratorium.

Ved bruk av histoprosessorer eller automatiske fargesystemer må du følge bruksanvisningen som leveres av leverandøren av systemet og programvaren.

Analytiske ytelsesegenskaper

«Kongorødt fargesett» farger og visualiserer dermed biologiske strukturer, som beskrevet i kapittelet «Resultat» i denne bruksanvisningen. Produktet skal bare brukes av autoriserte og kvalifiserte personer. Dette omfatter blant annet klargjøring av prøve og reagens, prøvehåndtering, histoprosessering, beslutninger om egnede kontroller med mer.

Produktets analytiske ytelse bekreftes ved testing av hvert produksjonsparti. Regelmessig vellykket deltakelse i internasjonale prøver mellom laboratorier gir en ytterligere og ikke-tilknyttet bekreftelse av analytisk spesifisitet.

For følgende farger ble den analytiske ytelsen bekreftet med hensyn til produktets spesifisitet, sensitivitet og repeterbarhet med en hastighet på 100 %:

	Spesifisitet mellom analyser	Sensitivitet mellom analyser	Spesifisitet innenfor samme analyse	Sensitivitet innenfor samme analyse
Kongorød farging				
Kjerner	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (i overført lys)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (i polarisert lys)	8/8	8/8	6/6	6/6
Bindevev	8/8	8/8	6/6	6/6
Kollagen	8/8	8/8	6/6	6/6

Analytiske ytelsesresultater

Data innenfor samme analyse (utført på samme parti) og mellom analyser (utført på forskjellige partier) viser antall strukturer som er riktig farget, i forhold til antall utførte analyser.

Resultatene av denne ytelsesevalueringen bekrefter at produktet er egnet for tiltenkt bruk og har pålitelig ytelse.

Diagnostikk

Diagnoser skal kun stilles av autorisert og kvalifisert personell. Det må brukes gyldige nomenklaturer. Denne metoden kan brukes supplerende i human diagnostikk. Ytterligere tester må velges og gjennomføres i henhold til anerkjente metoder. Passende kontroller bør utføres med hver applikasjon for å unngå feil resultat.

For med sikkerhet å identifisere amyloid bør funnene under overført lys alltid etterfølges av en inspeksjon av materialet under polarisert lys.

Oppbevaring

Oppbevar Kongorødt fargesett – sett for på påvisning av amyloid iht. Highman ved +15 °C til +25 °C.

Holdbarhet

«Kongorødt fargesett – sett for påvisning av amyloid iht. Highman» kan brukes frem til den angitte utløpsdatoen.

Etter første åpning av flasken kan innholdet brukes frem til angitt utløpsdato ved oppbevaring fra +15 til +25 °C.

Reagens 2 (KOH-løsning) kan fortsatt brukes og gir gode resultater, selv når den har blitt rosa. Den allerede brukte KOH-løsningen kan etterfylles i PE-flasken over et filter.

Flaskene bør alltid holdes tett lukket for å unngå fordampning av alkoholen, og dermed også hindre en økning i konsentrasjonen av fargestoffet.

Kapasitet

Pakken rekker til opptil 50 påføringer.

Ytterligere instruksjoner

Kun til profesjonell bruk.

For å unngå feil må applikasjon kun utføres av kvalifisert personell. Nasjonale retningslinjer for arbeidssikkerhet og kvalitetssikring skal følges. Mikroskoper utstyrt i henhold til standarden skal brukes.

Beskyttelse mot infeksjon

Effektive tiltak må iverksettes for å beskytte mot infeksjon i tråd med laboratoriets retningslinjer.

Instruksjoner for avfallshåndtering

Pakken må kastes i henhold til gjeldende retningslinjer for avfallshåndtering. Brukte løsninger og løsninger som er gått ut på dato, skal kastes som spesialavfall i henhold til lokale retningslinjer. Informasjon om avfallshåndtering kan fås under hurtiglenken «Hints for Disposal of Microscopy Products» på www.microscopy-products.com. I EU får gjeldende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassifisering, merking og emballering av stoffer og stoffblandinger, endring og oppheving av direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og endring av forordning (EF) nr. 1907/2006 anvendelse.

Hjelpereagenser

Kat.nr.	1.00496	Formaldehydløsning 4 %, bufret, pH 6,9 (ca. 10 % formalinløsning) for histologi	350 og 700 ml (i flaske med vid hals), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Kat.nr.	1.00579	DPX, nytt vannfritt monteringsmiddel for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.00869	Entellan™ ny for dekkglass for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.00974	Etanol denaturert med ca. 1 % metyletylketon for analyse, EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.04699	Immersjonsolje for mikroskopi	100 ml dråpeteller, 100 ml, 500 ml
Kat.nr.	1.05174	Hematoksylin løsning modifisert i.h.t. Gill III for mikroskopi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.05175	Hematoksylin løsning modifisert i følge Gill II for mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.07961	Entellan™ ny hurtig monteringsmedium for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr.	1.08298	Xylen (isomer blanding) for histologi	4 l
Kat.nr.	1.09016	Neo-Mount™ vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	100 ml dråpeflaske, 500 ml
Kat.nr.	1.09843	Neo-Clear™ (xylen substitutt) for mikroskopi	5 l
Kat.nr.	1.11609	Histosec™-pastiller størkningspunkt 56–58 °C, innkapslingsmiddel for histologi	1 kg, 10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg
Kat.nr.	1.15161	Histosec™-pastiller (uten DMSO), størkningspunkt 56–58 °C innkapslingsmiddel for histologi	10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg

Fareklassifisering

Kat.nr. 1.01641.0001
Vær oppmerksom på fareklassifiseringen som er trykt på etiketten, og informasjonen som er gitt i sikkerhetsdatabladet. Sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig på nettstedet og på forespørsel. FORSIKTIG! Inneholder CMR-stoffer. Følg de tilsvarende sikkerhetsinstruksjonene i sikkerhetsdatabladet.

Hovedkomponentene i produktene

Kat.nr. 1.01641.0001	
Reagens 1	
K.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l = 0,93 kg	
Reagens 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l = 0,84 kg	

Generell merknad

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret eller som følge av bruk, skal du rapportere det til produsenten og/eller den autoriserte representanten og til den nasjonale myndigheten.

Litteratur

- Romeis – Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Conn’s Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H290: Kan være etsende for metaller.

H315: Irriterer huden.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

H350: Kan forårsake kreft.

P202: Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.

P210: Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.

P233: Hold beholderen tett lukket.

P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

P308 + P313: Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

Reagens 1:

H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H350: Kan forårsake kreft.

Reagens 2:

H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H290: Kan være etsende for metaller.

H315: Irriterer huden.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-01	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk



Se bruksanvisning



Produsent



Katalognummer



Partikode



Forsiktig, se medfølgende dokumenter



Brukes innen
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperaturbegrensning

Status: 2024-Jul-01

Life Science-virksomheten til Merck drives under navnet MilliporeSigma i USA og Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland og/eller deres samarbeidspartnere. Med enerett. Merck og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland. Alle andre varemerker tilhører deres respektive eiere. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01641.0001 **REF****Mikroskopia****Congo Red, farbiaca súprava**

Súprava na detekciu amyloidov podľa Highmana

Len na profesionálne použitieDiagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro***Určený účel**

„Congo Red, farbiaca súprava – Súprava na detekciu amyloidov podľa Highmana“ sa používa na zdravotnícku diagnostiku ľudských buniek a slúži na histologické vyšetrenia materiálu vzoriek ľudského pôvodu. Ide o farbiacu súpravu pripravenú na použitie, ktorá pri použití spolu s ďalšími diagnostickými výrobkami *in vitro* z nášho portfólia umožňuje hodnotenie cieľových štruktúr na diagnostické účely (fixáciou, zaliatím, farbením, kontrastným farbením, prikrytím) v materiáloch histologických vzoriek, ako sú histologické rezy napr. obličiek, čreva alebo pečene.

Congo Red, farbiaca súprava – Súprava na detekciu amyloidov podľa Highmana obsahuje všetky reagenty nevyhnutné na farbenie amyloidov v histologických tkanivách.

Nezafarbené štruktúry sú relatívne málo kontrastné a pod svetelným mikroskopom sa veľmi ťažko rozlišujú. Obrazy vytvorené pomocou farbiacich roztokov pomáhajú v takýchto prípadoch autorizovanému a kvalifikovanému lekárovi lepšie definovať tvar a štruktúru. Na stanovenie definitívnej diagnózy môžu byť potrebné ďalšie vyšetrenia.

Princíp

Amyloid je homogénna štruktúra tvorená proteínovými fibrilami (každá s priemerom 8 až 15 nm), ktoré sa môžu eozinofilne farbiť, napr. v prípade amyloidózy tvorí usadeniny v medzibunkovom priestore. Všetky usadeniny amyloidu obsahujú podobné proteínové fibrily, ktoré sú odolné proti prirodzeným obranným mechanizmom tela a ktoré sa po ich vytvorení nedajú odstrániť.

Princíp farbenia Congo red je založený na tvorbe väzieb vodíkových mostíkov s karbohydrátovou zložkou substrátu. Congo red je aniónové farbivo a je schopné ukladať sa v amyloidových fibrilách, ktoré potom pod polarizovaným svetlom prejavujú výrazný dichroizmus. Tkanivo zafarbené pomocou Congo red sa pod mikroskopom s prenášaným svetlom javí ako oranžovo-červené. Pri polarizovanom svetle sa však usadeniny amyloidu prejavujú ako brilantovo-zelené obrazy s dvojítmym lomom na tmavom pozadí. Ďalšie štruktúry takisto zafarbené pomocou Congo red, napr. kolagén, však pod polarizovaným svetlom nie sú viditeľné.

Farbenie môže byť technicky náročné, ak sú použité parafrínové rezy príliš tenké (< 5 µm) alebo ak je tkanivo príliš silne zafarbené.

Materiál vzorky

Ako východiskový materiál sa používajú rezy formalínom fixovaného, do parafrínu zaliateho tkaniva (5 – 6 µm hrubé parafrínové rezy).

Reagentie

Kat. č. 1.01641.0001

Congo Red, farbiaca súprava

Súprava na detekciu amyloidov podľa Highmana

Súčasť balenia:

Farbiaca súprava obsahuje položky

Reagentia 1: Roztok Congo Red, farbiaca súprava 100 ml

Reagentia 2: Roztok KOH (s obsahom etanolu) 2 × 100 ml

Vyžadujú sa aj:

Kat. č. 1.05174 Hematoxylín, roztok, modifikovaný podľa Gilla III 500 ml, 1 I, 2,5 I pre mikroskopiu

Kat. č. 1.05175 Hematoxylín, roztok, modifikovaný podľa Gilla II 500 ml, 2,5 I pre mikroskopiu

Príprava vzorky

Výber vzoriek musí vykonávať kvalifikovaný personál.

Všetky vzorky musia byť spracované pomocou najmodernejšej technológie.

Všetky vzorky musia byť jasne označené.

Na odber vzoriek a ich prípravu sa musia používať vhodné nástroje. Pri aplikácii/používaní postupujte podľa pokynov výrobcu.

Pri používaní príslušných pomocných reagentov je potrebné dodržiavať príslušné návody na použitie.

Deparafinizujte a rehydratujte rezy bežným spôsobom.

Príprava reagentie

Congo Red, farbiaca súprava – Súprava na detekciu amyloidov podľa Highmana používané na farbenie sú pripravené na použitie. Riedenie roztokov nie je potrebné a spôsobuje len zhoršenie výsledku farbenia a jeho stability.

Reagentia 2 (roztok KOH) sa môže stále používať a poskytuje dobré výsledky, aj keď sa sfarbí na ružovo.

Už použitý roztok KOH sa môže cez filter opätovne naplniť do polyetylénovej fľaše.

Postup**Farbenie vnútri bunky**

Histologické preparáty deparafinizujte bežným spôsobom a rehydratujte ich v zostupnej sérii alkoholu.

Po jednotlivých krokoch farbenia by sa sklíčka mali nechať dobre odkvapkať, aby sa zabránilo zbytočnej krížovej kontaminácii roztokov.

Uvedené časy treba dodržať, aby sa zaručil optimálny výsledok farbenia.

Sklíčko s histologickou vzorkou	
Destilovaná voda	1 min
Roztok hematoxylínu, modifikovaný podľa Gilla II alebo Roztok hematoxylínu, modifikovaný podľa Gilla III	5 min
Tečúca voda z vodovodu	5 min
Reagentia 1 (roztok Congo Red)	10 min
Tečúca voda z vodovodu	5 min
Reagentia 2 (roztok KOH)	30 – 40 s
Tečúca voda z vodovodu	5 min
Etanol 96 %	30 s
Etanol 96 %	30 s
Etanol 100 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Xylén alebo Neo-Clear™	5 min
Xylén alebo Neo-Clear™	5 min
Sklíčka navlhčené zmesou Neo-Clear™ zafixujte prípravkom Neo-Mount™ alebo sklíčka pokvapkané xylénom napr. prípravkom Entellan™ new a prikryte krycím sklíčkom.	

Po dehydratácii (vo vzostupnej sérii alkoholu) a vyčistení xylénom alebo prípravkom Neo-Clear™ sa histologické vzorky môžu pokryť nevodnými fixačnými činidlami (napr. Neo-Mount™, Entellan™, DPX new alebo Entellan™ new) a zakryť krycím sklíčkom, potom sa preparáty môžu skladovať.

Výsledok

Jadrá	tmavomodrá
Amyloid	
v prenášanom svetle	ružová až červená
v polarizovanom svetle	zelená metachromázia
Spojivové tkanivo, kolagén	svetločervená

Riešenie problémov**Farbenie amyloidových fibril je príliš slabé**

Farbenie môže byť technicky náročné najmä vtedy, ak sú použité parafrínové rezy príliš tenké (< 5 µm), pretože v takom prípade nie je dostupný adekvátny amyloid, aby sa naviazal na farbivo Congo red. Môže to viesť k falošne negatívnym výsledkom. Z tohto dôvodu sa majú na farbenie odobrať parafrínové rezy > 5 µm.

V prípade príliš intenzívnej inkubácie s etanolom v dehydratačnom kroku sa môže farbivo Congo red zo vzorky tkaniva vymyť, čo povedie k odfarbeniu vzorky.

Časy dehydratácie stanovené v protokole sa majú prísne dodržiavať ako opatrenie na zamedzenie falošne negatívnym výsledkom.

Technické poznámky

Použitý mikroskop má spĺňať požiadavky zdravotníckeho diagnostického laboratória.

Pri používaní histoprocessorových a automatických farbiacich systémov postupujte podľa návodu na použitie, ktorý poskytol dodávateľ systému a softvéru.

Charakteristika analytických činností

„Congo Red, farbiaca súprava“ farbí a tým umožňuje vizualizáciu biologických štruktúr podľa opisu v kapitole „Výsledok“ tohto návodu na použitie. Len oprávnené a kvalifikované osoby môžu používať tento výrobok, čo okrem iného zahŕňa prípravu vzoriek a reagencií, manipuláciu so vzorkami, histologické spracovanie, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a ďalšie.

Analytické činnosti výrobku sa potvrdzujú pri testovaní každej výrobnjej šarže. Úspešná pravidelná účasť na medzinárodných medzilaboratórnych testoch poskytuje dodatočné a neovplyvnené potvrdenie analytickej špecifickosti.

V prípade nasledujúcich farbení sa potvrdili analytické činnosti z hľadiska špecifickosti, citlivosti a opakovateľnosti výrobku s podielom 100 %:

	Špecifickosť medzi testami	Citlivosť medzi testami	Špecifickosť v rámci testu	Citlivosť v rámci testu
Farbenie Congo red				
Jadrá	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (v prenášanom svetle)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amyloid (v polarizovanom svetle)	8/8	8/8	6/6	6/6
Spojivové tkanivo	8/8	8/8	6/6	6/6
Kolagén	8/8	8/8	6/6	6/6

Výsledky analytických činností

V údajoch v rámci testu (vykonanými na tej istej šarži) a medzi testami (vykonanými na rôznych šaržiach) sa uvádza počet správne zafarbených štruktúr v súvislosti s počtom vykonaných testov.

Výsledky tohto hodnotenia činností potvrdzujú, že výrobok je vhodný na zamýšľané použitie a spoľahlivo funguje.

Diagnostika

Diagnostiku smie vykonávať len oprávnený a kvalifikovaný personál. Musia sa používať platné nomenklatúry. Túto metódu možno dodatočne použiť v humánnej diagnostike. Ďalšie testy sa musia vybrať a vykonať podľa uznávaných metód. Pri každej aplikácii treba vykonať vhodné kontroly, aby sa predišlo nesprávnym výsledkom.

V záujme určenia amyloidu s isotou má pri nálezoch pod prenášaným svetlom vždy nasledovať kontrola materiálu pod polarizovaným svetlom.

Skladovanie

Congo Red, farbiaca súprava – Súpravu na detekciu amyloidov podľa Highmana skladujte pri teplote +15 °C až +25 °C.

Skladovateľnosť

Congo Red, farbiaca súprava– Súprava na detekciu amyloidov podľa Highmana sa môže používať do uvedeného dátumu expirácie.

Po prvom otvorení fľaše sa obsah môže používať do uvedeného dátumu expirácie, ak sa skladuje pri teplote +15 °C až +25 °C.

Reagencia 2 (roztok KOH) sa môže stále používať a poskytuje dobré výsledky, aj keď sa sfarbí na ružovo.

Už použitý roztok KOH sa môže cez filter opätovne naplniť do polyetylénovej fľaše.

Fľaše sa vždy majú uchovávať dobre uzavreté, aby sa zabránilo vypareniu obsiahnutého alkoholu, a tým zároveň zvýšeniu koncentrácie farbiva.

Kapacita

Balenie vystačí na 50 aplikácií.

Ďalšie pokyny

Len na profesionálne použitie.

Aby sa predišlo chybám, aplikáciu smie vykonávať len kvalifikovaný personál.

Musia sa dodržiavať štátne smernice pre bezpečnosť práce a zabezpečenie kvality.

Musia sa používať mikroskopy vybavené podľa normy.

Ochrana pred infekciou

Musia sa prijať účinné opatrenia na ochranu pred infekciami, ktoré sú v súlade s laboratórnymi usmerneniami.

Pokyny na likvidáciu

Obal sa musí zlikvidovať v súlade s aktuálnymi pokynmi na likvidáciu. Použité roztoky a roztoky, ktoré sú po dobe skladovateľnosti, sa musia zlikvidovať ako špeciálny odpad v súlade s miestnymi smernicami. Informácie

o likvidácii nájdete v rýchlom prepojení „Rady pre likvidáciu výrobkov z oblasti mikroskopie“ na webovej lokalite www.microscopy-products.com. V rámci EÚ platí v súčasnosti platné NARIADENIE (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, ktorým sa menia a rušia smernice 67/548/EHS a 1999/45/ES, a ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 1907/2006.

Pomocné reagencie

Kat. č.	1.00496	Formaldehyd, 4 % roztok, pufrovaný, pH 6,9 (asi 10 % formalínový roztok) pre histológiu	350 ml a 700 ml (vo fľaši so širokým hrdlom), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Kat. č.	1.00579	DPX new nevodné fixačné médium pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.00869	Entellan™ new kvapalné krycie sklíčko pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.00974	Etanol denaturovaný, s asi 1 % roztokom metyletylketónu na analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	100 ml kvapkacia fľaštička, 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.05174	Hematoxylín, roztok, modifikovaný podľa Gilla III pre mikroskopiu	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.05175	Hematoxylín, roztok, modifikovaný podľa Gilla II pre mikroskopiu	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.07961	Entellan™ new médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č.	1.08298	Xylén (izoména zmes) na histológiu	4 l
Kat. č.	1.09016	Neo-Mount™ bezvodé fixačné médium pre mikroskopiu	100 ml kvapkacia fľaštička, 500 ml
Kat. č.	1.09843	Neo-Clear™ (náhrada xylénu) pre mikroskopiu	5 l
Kat. č.	1.11609	Histosec™ pastilky bod tuhnutia 56 – 58 °C, zalievacie činidlo pre histológiu	1 kg, 10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg
Kat. č.	1.15161	Pastilky Histosec™ (bez DMSO) teplota 56 – 58 °C, zalievacie médium pre histológiu	10 kg (4 × 2,5 kg), 25 kg

Klasifikácia nebezpečnosti

Kat. č. 1.01641.0001

Riadte sa klasifikáciou nebezpečnosti vytlačenou na etikete a informáciami uvedenými na karte bezpečnostných údajov.

Karta bezpečnostných údajov je k dispozícii na webovej lokalite a na požiadanie.

POZOR! Obsahuje látky CMR (karcinogénne, mutagénne a toxické pre reprodukciu). Dodržiavajte príslušné bezpečnostné pokyny uvedené na karte bezpečnostných údajov.

Hlavné zložky výrobkov

Kat. č.	1.01641.0001
Reagencia 1	
C.I. 22120	10 g/l
C ₂ H ₅ OH	390 g/l
1 l =	0,93 kg
Reagencia 2	
KOH	5,69 g/l
C ₂ H ₅ OH	749 g/l
1 l =	0,84 kg

Všeobecná poznámka

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažná nehoda, nahláste ju výrobcovi alebo jeho autorizovanému zástupcovi a štátnemu orgánu.

Literatúra

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
- Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
- Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition

8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition

9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.
H290: Môže byť korozívna pre kovy.
H315: Dráždi kožu.
H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.
H350: Môže spôsobiť rakovinu.

P202: Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.
P210: Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite.
P233: Nádobu uchovávať tesne uzavretú.
P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE s POKOŽKOU (alebo vlasmi): Vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou.
P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.
P308 + P313: Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

Reagencia 1:
H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.
H350: Môže spôsobiť rakovinu.

Reagencia 2:
H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.
H290: Môže byť korozívna pre kovy.
H315: Dráždi kožu.
H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-01	Prvá verzia s uvedením časti História revízií



Prečítajte si návod na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód dávky



Pozor, prečítajte si sprievodné dokumenty



Použitie do RRRR-MM-DD



Obmedzenie teploty

Status: 2024-Jul-01

Life Science spoločnosť Merckpôsobí v USA a Kanade pod názvom MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko a/alebo jej pobočky. Všetky práva vyhradené. Merck a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom príslušných vlastníkov. Detailné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii z verejne dostupných zdrojov.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.01641.0001

REF

Mikroskop

Kongo Kırmızısı renklendirme kiti

Amiloid tayini için kit Highman uyarınca

Yalnızca profesyonel kullanıma yöneliktir

IVD

İn Vitro Tanı Amaçlı Tıbbi Cihaz

CE

Kullanım amacı

Bu "Kongo Kırmızısı renklendirme kiti - Amiloid tayini için kit Highman uyarınca" ürünü, insan-tıbbi hücre tanısında kullanılır ve insan kaynaklı numune materyalinin histolojik olarak incelenmesini sağlar. Portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanı amaçlı ürünlerle birlikte kullanıldığında histolojik örnek materyallerinde (örneğin böbrek, bağırsak veya karaciğerin histolojik kesitleri) hedef yapıları tanılama amaçları için (sabitleme, gömme, boyama, karşı boyama, yerleştirme işlemleriyle) değerlendirilebilir hale getiren kullanıma hazır bir boyama kitidir.

Bu Kongo Kırmızısı renklendirme kiti - Amiloid tayini için kit Highman uyarınca ürünü, histolojik dokularda amiloidin boyanması için gereken tüm reaktifleri içerir.

Boyanmamış yapıların kontrastı görece düşüktür ve ışık mikroskobu altında ayırt edilmeleri son derece güçtür. Boyama çözeltileriyle oluşturulan görüntüler, yetkili ve kalifiye araştırmacının bu tip durumlarda formu ve yapıyı daha iyi tanımlamasına yardımcı olur. Kesin bir tanıya ulaşmak için daha fazla inceleme yapılması gerekebilir.

Çalışma İlkesi

Amiloid, eozinofilik olarak boyanabilen, amiloidoz durumunda hücreler arası boşlukta birikintiler oluşturan protein fibrillerinden (her birinin çapı 8 ile 15 nm arasında) oluşan homojen bir yapıdır. Tüm amiloid birikintileri, vücudun doğal savunma mekanizmalarına dirençli olan ve oluştuktan sonra ortadan kaldırılamayan benzer protein fibrilleri içerir.

Kongo kırmızısı boyama prensibi, substratın karbonhidrat bileşeni ile hidrojen köprüsü bağlarının oluşumuna dayanmaktadır. Anyonik bir boya olan Kongo kırmızısı, amiloid fibrillerinde birikme yeteneğine sahip olduğundan daha sonra polarize ışık altında göze çarpan iki renk ortaya çıkarır. Kongo kırmızısı ile boyanan doku, iletilen ışık mikroskobu altında turuncu-kırmızı renkte görünür. Ancak amiloid birikintileri, polarize ışık altında koyu bir arka plan üzerindeyken parlak yeşil çift kırılmalı görüntüler olarak ortaya çıkar. Diğer yapılar (örneğin kolajen) da Kongo kırmızısı ile boyanır, ancak polarize ışık altında görüntülenemez.

Kullanılan parafin kesitleri çok ince olduğunda (<5 µm) veya doku aşırı boyandığında boyama, teknik açıdan zor olabilir.

Numune materyali

Başlangıç materyali olarak formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş doku kesitleri (5-6 µm kalınlığında parafin kesitler) kullanılır.

Reaktifler

Kat. No. 1.01641.0001
Kongo Kırmızısı renklendirme kiti
Amiloid tayini için kit Highman uyarınca

Paket bileşenleri:

Boyama kiti şunları içerir

Reaktif 1: Kongo Kırmızısı çözelti 100 ml
Reaktif 2: KOH çözeltisi 2x 100 ml

Gereken diğer ürünler:

Kat. No. 1.05174 Hematoksinin çözeltisi modifiye Gill III 500 ml, 1 l, 2,5 l
uyarınca
mikroskop için
Kat. No. 1.05175 Hematoksinin çözeltisi modifiye Gill II 500 ml, 2,5 l
uyarınca
mikroskop için

Numune hazırlığı

Numune alımı, kalifiye personel tarafından gerçekleştirilmelidir.

Tüm numuneler son teknoloji kullanılarak işlenmelidir.

Tüm numuneler net bir şekilde etiketlenmelidir.

Numunelerin alınması ve hazırlanması için uygun cihazlar kullanılmalıdır.

Uygulama/kullanım için üreticinin talimatlarına uyun.

Uygun yardımcı reaktifler kullanılırken ilgili kullanım talimatları izlenmelidir.

Kesitleri konvansiyonel şekilde deparafinize ve rehidrate edin.

Reaktif hazırlığı

Boyama için kullanılan Kongo Kırmızısı renklendirme kiti - Amiloid tayini için kit Highman uyarınca ürünündeki reaktifler kullanıma hazırdır ve çözeltilerin seyreltilmesi gerekmez; seyreltme işlemi yalnızca boyama sonucunun ve stabilitenin bozulmasına neden olur.

Reaktif 2 (KOH çözeltisi) pembeye dönse bile hâlâ kullanılabilir ve iyi sonuçlar verir.

Daha önce kullanılan KOH çözeltisi, filtre aracılığıyla PE şişeye yeniden doldurulabilir.

Prosedür

Boyama hücresinde boyama

Histolojik lamaları geleneksel şekilde deparafinize edin ve giderek azalan bir alkol serisinde rehidrate edin.

Çözeltilerin gereksiz şekilde çapraz kontaminasyona maruz kalmasını önlemeye ilkin bir tedbir olarak her boyama adımından sonra lamaların iyice süzülmesi sağlanmalıdır.

Optimal boyama sonuçları elde etmek için belirtilen sürelerle uyulmalıdır.

Histolojik örneğin bulunduğu lam	
Distile su	1 dak
Gill II'ye göre modifiye hematoksin çözeltisi veya Gill III'e göre modifiye hematoksin çözeltisi	5 dak
Akan musluk suyu	5 dak
Reaktif 1 (Kongo Kırmızısı çözeltisi)	10 dak
Akan musluk suyu	5 dak
Reaktif 2 (KOH çözeltisi)	30-40 saniye
Akan musluk suyu	5 dak
Etanol %96	30 saniye
Etanol %96	30 saniye
Etanol %100	1 dak
Etanol %100	1 dak
Ksilen veya Neo-Clear™	5 dak
Ksilen veya Neo-Clear™	5 dak
Neo-Clear™ ile ıslatılmış lamaları Neo-Mount™ veya ksilen ile ıslatılmış lamaları Entellan™ new ve cam lamel kullanarak yerleştirin.	

Dehidrasyon (artan alkol serisi) ve ksilen ya da Neo-Clear™ ile berraklaştırma sonrasında histolojik numuneler su içermeyen yerleştirme ajanları (ör. Neo-Mount™, Entellan™, DPX new veya Entellan™ new) ve bir cam lamel kullanılarak yerleştirilip saklanabilir.

Sonuç

Çekirdekler	koyu mavi
Amiloid	
iletilen ışık altında	pembe ile kırmızı arası
polarize ışık altında	yeşil metakromazi
Bağ dokusu, kolajen	açık kırmızı

Sorun giderme

Amiloid fibrillerinin boyanması çok zayıf

Kullanılan parafin kesitleri çok ince olduğunda (<5 µm) Kongo kırmızısını almaya yetecek kadar amiloid mevcut olmadığından boyama, teknik açıdan zor olabilir. Bu durumda yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu nedenle boyama için >5 µm parafin kesitleri alınmalıdır.

Dehidrasyon adımında etanol ile aşırı yoğun inkübasyon yapılması durumunda Kongo kırmızısı boya, numune dokusundan yıkanarak çıkarılabilir ve bu da numunenin renginin solmasına neden olabilir. Yanlış negatif sonuçları önlemek için protokolde belirtilen dehidrasyon sürelerine mutlaka uyulmalıdır.

Teknik notlar

Kullanılan mikroskop bir tıbbi tanı laboratuvarının gerekliliklerini karşılamalıdır.

Histolojik işleme sistemleri ve otomatik boyama sistemleri kullanırken lütfen sistem ve yazılım tedarikçisinin sağladığı kullanım talimatlarını izleyin.

Analitik performans özellikleri

"Kongo Kırmızısı renklendirme kiti" bu Kullanım Talimatları'nın "Sonuç" bölümünde açıklandığı gibi biyolojik yapıları boyayarak görselleştirir. Ürün yalnızca yetkili ve kalifiye kişiler tarafından kullanılmalıdır. Ürünün kullanımı; numune ve reaktif hazırlığı, numune işlenmesi, histolojik işleme, uygun kontrollere ilişkin kararların alınması gibi adımları içerir.

Ürünün analitik performansı her üretim serisinin test edilmesiyle doğrulanır. Uluslararası laboratuvarlar arası testlere düzenli olarak başarılı katılım, analitik özgülüğün bağımsız ve ekstra bir şekilde doğrulanmasını sağlamaktadır.

Aşağıdaki boyamalar için analitik performans; ürünün özgülüğü, hassasiyeti ve tekrarlanabilirliği açısından %100 oranında doğrulanmıştır:

	Analizler Arası Özgülük	Analizler Arası Hassasiyet	Analiz İçi Özgülük	Analiz İçi Hassasiyet
Kongo kırmızı boyama				
Çekirdekler	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (iletilen ışık altında)	8/8	8/8	6/6	6/6
Amiloid (polarize ışık altında)	8/8	8/8	6/6	6/6
Bağ dokusu	8/8	8/8	6/6	6/6
Kolajen	8/8	8/8	6/6	6/6

Analitik performans sonuçları

Analiz içi (aynı seri üzerinde gerçekleştirilen) ve analizler arası (farklı seriler üzerinde gerçekleştirilen) veriler, gerçekleştirilen analizlerin sayısına göre doğru boyanan yapıların sayısını listeler.

Bu Performans Değerlendirmesi, ürünün kullanıma amacına uygun olduğunu ve güvenilir şekilde performans gösterdiğini doğrular.

Tanılama

Tanılar yalnızca yetkili ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

Geçerli adlandırmalar kullanılmalıdır.

Bu yöntem, insana yönelik tanılama işlemlerinde destekleyici olarak kullanılabilir.

Kabul görmüş yöntemlere göre başka testler seçilmeli ve uygulanmalıdır.

Hatalı sonuçları önlemek için her uygulamada uygun kontroller gerçekleştirilmelidir.

Amiloidin kesin olarak tanımlanması için, iletilen ışık altındaki bulguların ardından her zaman materyalin polarize ışık altında incelenmesi gerekir.

Saklama

Kongo Kırmızısı renklendirme kiti - Amiloid tayini için kit Highman uyarınca ürününü, +15°C ile +25°C arasında saklayın.

Raf ömrü

Kongo Kırmızısı renklendirme kiti - Amiloid tayini için kit Highman uyarınca ürünü, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişe ilk kez açıldıktan sonra içeriği, +15°C ile +25°C arasında saklandığında belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Reaktif 2 (KOH çözeltisi) pembeye dönse bile hâlâ kullanılabilir ve iyi sonuçlar verir.

Daha önce kullanılan KOH çözeltisi, filtre aracılığıyla PE şişeye yeniden doldurulabilir.

Şişeler, içindeki alkolün buharlaşmasını ve dolayısıyla boya konsantrasyonunun yükselmesini önlemek için her zaman sıkıca kapalı tutulmalıdır.

Kapasite

Paket 50 uygulama için yeterlidir.

Ek talimatlar

Yalnızca profesyonel kullanıma yöneliktir.

Hataların önlenmesi için uygulamanın yalnızca kalifiye personel tarafından gerçekleştirilmesi gerekir.

İş güvenliği ve kalite güvencesi ile ilgili ulusal yönergeler izlenmelidir.

Standartlara uygun donanımdaki mikroskoplar kullanılmalıdır.

Enfeksiyona karşı koruma

Enfeksiyondan korunmak için laboratuvar yönergeleri doğrultusunda etkili önlemler alınmalıdır.

Bertaraf talimatları

Ambalaj, güncel bertaraf yönergeleri doğrultusunda bertaraf edilmelidir.

Kullanılmış çözelti ve raf ömrü geçmiş çözelti, yerel yönergeler uyarınca özel atık olarak bertaraf edilmelidir.

Bertarafa ilişkin bilgiler www.microscopy-products.com adresinde yer alan "Hints for Disposal of

Microscopy Products" (Mikroskopi Ürünlerinin Bertarafıyla İlgili Bilgiler)

Hızlı Bağlantısından edinilebilir. Avrupa Birliği (AB) içinde 67/548/EEC ve 1999/45/EC sayılı Direktifleri tadil eden ve yürürlükten kaldıran ve 1907/2006 sayılı Yönetmeliği (EC) tadil eden maddelerin ve karışımların sınıflandırılması, etiketlenmesi ve ambalajlanmasına ilişkin 1272/2008 sayılı YÖNETMELİK (EC) geçerlidir.

Yardımcı reaktifler

Kat. No. 1.00496 Formaldehit çözeltisi %4, tamponlu, pH 6,9 (yakl. %10 Formalin çözeltisi) histoloji için	350 ml ve 700 ml (geniş boyunlu bir şişede), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
---	--

Kat. No. 1.00579 DPX yeni mikroskopi için susuz kapama ortamı	500 ml
Kat. No. 1.00869 Entellan™new lamel için mikroskopi için	500 ml
Kat. No. 1.00974 Yaklaşık %1 metil etil keton ile denatüre edilmiş etanol analiz için EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.04699 İmersiyon yağı mikroskopi için	100 ml damlalıklı şişe, 100 ml, 500 ml
Kat. No. 1.05174 Hematoksinin çözeltisi modifiye Gill III uyarınca mikroskopi için	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.05175 Hematoksinin çözeltisi modifiye Gill II uyarınca mikroskopi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.07961 Entellan™ new hızlı destek besiyeri mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. No. 1.08298 Ksilen izometrik karışım histoloji için	4 l
Kat. No. 1.09016 Neo-Mount™ susuz destek besiyeri mikroskopi için	100 ml damlalıklı şişe, 500 ml
Kat. No. 1.09843 Neo-Clear™ (ksilen yedeği) mikroskopi için	5 l
Kat. No. 1.11609 Histosec™ pastilleri katılaşma noktası 56-58 °C histoloji için gömme ajanı	1 kg, 10 kg (4× 2,5 kg), 25 kg
Kat. No. 1.15161 Histosec™ pastilleri (DMSO'suz) katılaşma noktası 56-58°C histoloji için gömme ajanı	10 kg (4× 2,5 kg), 25 kg

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.01641.0001

Lütfen etikette yer alan tehlike sınıflandırmasına ve güvenlik veri formundaki bilgilere dikkat edin.

Güvenlik veri formuna web sitesinden erişilebilir ve talep üzerine temin edilebilir.

DİKKAT! CMR maddeleri içerir. Lütfen güvenlik veri formunda belirtilen ilgili güvenlik talimatlarına uyun.

Ürünlerin ana bileşenleri

Kat. No. 1.01641.0001

Reaktif 1

C.I. 22120 10 g/l

C₂H₅OH 390 g/l

1 l = 0,93 kg

Reaktif 2

KOH 5,69 g/l

C₂H₅OH 749 g/l

1 l = 0,84 kg

Genel açıklama

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay yaşanırsa lütfen durumu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal makama bildirin.

Literatür

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
7. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



H225: Kolay alevlenirsıvı ve buhar.

H290: Metalleri aşındırabilir.

H315: Cilt tahrişine yol açar.

H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

H350: Kansere yol açabilir.

P202: Bütün önlem ifadeleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.
P210: Isıdan, sıcak yüzeylerden, kıvılcımdan, açık alevden ve diğer tutuşma kaynaklarından uzak tutun. Sigara içilmez.
P233: Kabı sıkıca kapalı tutun.
P303 + P361 + P353: CİLT [veya saç]ÜZERİNDE İSE: Bütün kirlenmiş giysileri hemen çıkarın. Cildi su ile durulayın.
P305 + P351 + P338: GÖZLERDE İSE: birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Kontakt lens varsa ve kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin.
P308 + P313: Maruz kalınma veya etkileşme halinde İSE: Tıbbi yardım/bakım alın.

Reaktif 1:

H225: Kolay alevlenir/sıvı ve buhar.
H350: Kanser yol açabilir.

Reaktif 2:

H225: Kolay alevlenir/sıvı ve buhar.
H290: Metalleri aşındırabilir.
H315: Cilt tahrişine yol açar.
H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-01	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.



Kullanım talimatlarına başvurun



Üretici



Katalog numarası



Seri kodu



Dikkat, eşlik eden belgelere bakın



Son kullanma tarihi
YYYY-AA-GG



Sıcaklık sınırlaması

Status: 2024-Jul-01

Merck'in Life Science bölümü, ABD ve Kanada'da MilliporeSigma olarak faaliyet göstermektedir.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Almanya ve/veya bağlı şirketleri. Tüm Hakları Saklıdır. Merck ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya'nın ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerine aittir. Ticari markalarla ilgili ayrıntılı bilgiler kamuoyuna açık kaynaklarda mevcuttur.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK