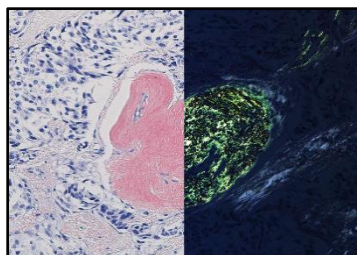


Congo Red Staining Kit

REF

860-026

05279429001

IVD
 40


Figur 1. Congo Red Staining Kit som farger amyloid i lungevev, lyst felt (venstre) og polarisert lys (høyre).

TILTENKT BRUK

Congo Red Staining Kit er ment for laboratoriebruk som en kvalitativ histologifarge for å vise amyloid i formalinfikserte parafininnstøpte (FFPE) vevssnitt farget på et BenchMark Special Stains-instrument.

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

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

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Congo Red Staining Kit er en modifikasjon av Highman-teknikken.¹

I 1922 ble bruken av Congo-rødt fargestoff til deteksjon av amyloid oppdaget av Bennhold.² Fargestoffhydrogenet binder til β -belagte plater av amyloid og er kjent for å binde til alle former for amyloid.² Moden amyloid inneholder fibriller med størrelse fra 0.1 til 10 μ m i lengde som samler seg for å danne uløselige plakk som er resistent mot nedbryting.³

Akkumuleringen av uløselige amyloidfibriller i ekstracellulære rom kan føre til amyloidose.^{4,5} Det er flere typer amyloidose, og hver er karakterisert ved forekomst av uløselige amyloidplakk og/eller -masser som kan føre til celledød og forstyrre normal organfunksjon.^{2,4}

Congo Red Staining Kit viser amyloid som hjelpemiddel for patologen ved diagnostisering av amyloidose.

PROSEDYREPRINSIPP

Fargingsreaksjonen er basert på påføringen av Congo Red Stain som farger mønstrene med atypiske proteiner (amyloid) rosa til lakserøde. Congo Red Buffer tilsettes for å differensiere fargen. Congo Red Hematoxylin, en Mayer-hematoxylinløsning, brukes for å gi kontrasterende blå til lilla kjernefarge. De β -belagte platene av amyloid er egnet i størrelse og form for de Congo-røde molekylerne som holdes i gitteret med de β -belagte platene.⁶ Dobbel lysbrytningsevne er en iboende egenskap ved komplekset av amyloidfibrill og Congo-rødt.^{7,8}

Dette kitet er optimalisert for bruk på BenchMark Special Stains-instrumenter. Reagensene påføres på vev på objektglass for mikroskop og blandes over hele prøven.

MEDFØLGENDE MATERIALER

Reagensbeholderne leveres i strekkodemerkede stativer som skal settes inn i reagensbrettet på instrumentet. Hvert kit inneholder tilstrekkelig reagens til 40 tester.

En 19 mL beholder med Congo Red Stain inneholder ca. 0.1 % Congo-rødt og 70 % isopropanol.

En 13 mL beholder med Congo Red Buffer inneholder ca. 0.5 % glysin og 2.0 % natriumklorid.

En 19 mL beholder med Congo Red Hematoxylin inneholder modifisert Mayer-hematoxylin.

Tre beholderinnsetts med sugerør.

Rekonstitusjon, blanding, fortynning, titrering

Ingen rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering er nødvendig. Videre fortynning av noen av reagensene kan føre til utilfredsstillende farging.

Reagensene i dette kitet er optimalt fortynnet for bruk på BenchMark Special Stains-instrumenter.

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE MEDFØLGER

Ikke alle produkter som er oppgitt i metodearket, er tilgjengelige i alle markeder. Kontakt lokal brukerstøtte.

Følgende reagenser og materialer vil kunne være påkrevd til farging, men følger ikke med:

1. Anbefalt kontrollvev
2. Objektglass for mikroskop, positivt ladede
3. BenchMark Special Stains-instrument
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (kat. nr. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (kat. nr. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (kat. nr. 860-041 / 08309817001)
7. Laboratorieutstyr til generelle formål

OPPBEVARING OG STABILITET

Congo Red Staining Kit skal oppbevares ved 2–8 °C. Avkjølte kitkomponenter må bringes til romtemperatur før bruk.

Når uåpnede og åpnede reagenser oppbevares på riktig måte, er de stabile til datoen angitt på etiketten. Ikke bruk reagens etter utløpsdatoen som står angitt på kitet.

Det er ikke noen åpenbare tegn som vil kunne indikere ustabilitet i disse reagensene. Kontroller bør derfor kjøres samtidig med ukjente prøver. Kontakt lokal brukerstøtte hvis positivt kontrollmateriale viser en reduksjon i farging, siden det kan indikere reagensustabilitet.

KLARGJØRING AV PRØVEN

Rutinemessig prosesserte FFPE-vev er nødvendige for bruk med dette produktet og BenchMark Special Stains-instrumenter. Anbefalt vevsfiksativ er 10 % nøytralt bufret formalin.¹

Utfør prøvetaking oppbevaring i samsvar med CLSI-dokument M29 T2.⁹ Skjær snitt til egnet tykkelse, ca. 8 μ m, og plasser snittene på positivt ladede objektglass.

1. Tørk objektglassene.¹
2. Skriv ut egnede strekkodeetiketter.
3. Påfør strekkodeetiketter på den frostede enden av objektglassene før objektglassene lastes inn på instrumentet (se instrumentets brukerhåndbok for riktig påføring av etiketter).

Se avsnittet Bruksanvisning for den anbefalte protokollen for BenchMark Special Stains-instrumentet.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Til in vitro-diagnostisk bruk (IVD).
2. Kun til profesjonell bruk.
3. **FORSIKTIG:** I USA begrenser føderal lov denne enheten til å selges av eller på bestilling fra en lege. (Rx Only)
4. Skal ikke brukes utover det spesifiserte antallet tester.
5. Positivt ladede objektglass kan være følsomme for miljøpåvirkning, noe som kan føre til feilaktig farging. Be Roche-representanten din om mer informasjon om hvordan du bruker disse objektglasstypene.
6. Materiale som stammer fra mennesker eller dyr, skal håndteres som smittefarlig biologisk materiale og kastes i henhold til korrekt prosedyre. Dersom en person har vært utsatt for slikt materiale, skal helsedirektivene fra myndighetene følges.^{10,11}
7. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne og slimhinner. Hvis reagenser kommer i kontakt med sensitive områder, må du skylle med rikelige mengder vann.
8. Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagenser, da det kan gi feil resultater.
9. Hvis du vil ha mer informasjon om bruken av denne enheten, kan du se brukerhåndboken for BenchMark Special Stains-instrumentet og bruksanvisningen for alle nødvendige komponenter som finnes på navifyportal.roche.com.
10. Rådfrø deg med lokale og/eller nasjonale myndigheter når det gjelder anbefalte metoder for avfallshåndtering.
11. Produktsikkerhetsmerking følger primært EU GHS-veiledningen. Sikkerhetsdataark er tilgjengelige for profesjonelle brukere på anmodning.
12. Hvis du trenger å rapportere mistenkte alvorlige hendelser knyttet til denne enheten, kontakter du den lokale Roche-representanten og den ansvarlige myndigheten i medlemslandet der brukeren holder til.

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

Tabell 1. Informasjon om farer.

Fare	Kode	Setning
  	H225	Svært brannfarlig væske og damp.
	H315	Irriterer huden.
	H319	Gir alvorlig øyeirritasjon.
	H336	Kan forårsake døsighet eller svimmelhet.
	H350	Kan forårsake kreft.
	H373	Kan forårsake organskader ved langvarig eller gjentatt eksponering.
	P201	Innhent særskilt instruks før bruk.
	P210	Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningskilder. Røyking forbudt.
	P260	Ikke pust inn tåke eller damp.
	P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselevem.
	P308+ P313	Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.
	P370+ P378	Ved brann: Slukk med tørr sand, tørt kjemikalie eller alkoholresistent skum som slökkemiddel.

EUH208: Dette produktet inneholder natriumjodat. Kan gi en allergisk reaksjon.

BRUKSANVISNING

Klargjør reagensglass

Før første gangs bruk må en beholderinnsats og et sugerør plasseres i reagensbeholderen.

Fjern transporthetten fra beholderen, og plasser innsatsen og sugerøret i beholderen. Innsatsen og sugerøret skal være igjen i beholderen straks beholderen er åpnet.

Fargingsprosedyre

1. Last reagenser og objektglass inn på instrumentet.
2. Plasser den myke hetten i spalten på reagensholderen når reagenset er i bruk.
3. Utfør fargekjøringen i samsvar med den anbefalte protokollen i Tabell 2 og instruksjonene i brukerhåndboken.
4. Når kjøringen er fullført, må du fjerne objektglassene fra instrumentet.
5. Bruk den myke hetten til å dekke reagensbeholderen når reagenset ikke er i bruk.

Anbefalt protokoll

Parameterne for de automatiserte prosedyrene kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til prosedyren i instrumentets brukerhåndbok.

Følgende prosedyrer muliggjør fleksibilitet og kan tilpasses brukernes preferanse. Dette produktet er optimalisert for bruk med BenchMark Special Stains-instrumenter, men brukeren må validere resultater oppnådd med dette produktet.

Tabell 2. Anbefalt fargeprotokoll for Congo Red Staining Kit på et BenchMark Special Stains-instrument.

Fargingsprosedyre	S Congo Red
Protokolltrinn	Metode
Avparafinisering	Velg for å automatisere parafinjerning.
Baking (valgfritt)	Standard er ikke valgt. 75 °C i 4 minutter anbefales.
Alternativ 1 eller Alternativ 2	Standard er Alternativ 1. Velg Alternativ 1 eller Alternativ 2: • Alternativ 1 vil dispensere Congo Red Stain før Hematoxylin, kjernene vil være lilla. • Alternativ 2 vil dispensere Hematoxylin før Congo Red Stain, kjernene vil være blå.
Alternativ 1	
Optimaliser fargingsintensitet (C. Red Stain)	Alternativ 1-standard er 37 °C i 24 minutter. Velg for å justere fargingsintensitet.* Velg temperatur fra 37–60 °C: • 37 °C, lysere farging av amyloid • 60 °C, mørkere farging av amyloid Velg en inkubasjonstid fra 20 til 32 minutter: • 20 minutter, lysere farging av amyloid • 32 minutter, mørkere farging av amyloid
Optimaliser Hematoxylin-intensitet (C. Red Hematoxylin)	Alternativ 1-standard er 12 minutter. Velg for å optimalisere hematoksylin*: • 4 minutter, lysere kjernefarge • 16 minutter, mørkere kjernefarge
Alternativ 2	
Optimaliser Hematoxylin-intensitet (C. Red Hematoxylin)	Alternativ 2-standard er 8 minutter. Velg for å optimalisere hematoksylin*: • 4 minutter, lysere kjernefarge • 16 minutter, mørkere kjernefarge
Optimaliser Congo Red-intensitet (C. Red Stain)	Alternativ 2-standard er 48 minutter. Velg for å justere fargingsintensitet.* Velg en inkubasjonstid fra 32 til 48 minutter: • 32 minutter, lysere farging av amyloid • 48 minutter, mørkere farging av amyloid

* Juster fargingspreferanser ved å endre fargetemperaturen og inkubasjonstiden én parameter om gangen.

Anbefalt prosedyre etter instrumentprosessering

1. Skyll objektglass i tre omganger med 100 % etanol for å fjerne gjenværende løsning, i 5 til 10 sekunder hver med forsiktig omrøring.
2. Dehydrer objektglass i tre omganger med 100 % xylene, i 5 til 10 sekunder hver med forsiktig omrøring.
3. Dekkglass med permanent monteringsmedium.
4. Kompatibel med VENTANA HE 600-systemets protokoll for påføring av dekkglass. Se brukerhåndboken for VENTANA HE 600-systemet for mer informasjon.

PROSEDYRE FOR KVALITETSKONTROLL

Et eksempel på et positivt kontrollmateriale er humant FFPE-vev som er positivt for amyloid, f.eks. fra en pasient med amyloidose.¹ Kontrollvev bør være prøver fra nylig foretatt obduksjon, biopsi eller operasjon som er klargjort eller fiksert så snart som mulig på samme måte som testsnittene. Slike vev skal overvåke alle trinn i analysen, fra vevsklargjøring til farging.

Bruk av et vevssnitt som er fiksert eller prosessert på en annen måte enn testprøven, gir kontroll for alle reagenser og metodetrinn bortsett fra fiksering og vevsprosessering. Cellekomponentene i andre vevselementer kan fungere som negativ kontroll.

Optimal laboratoriepraksis er å inkludere et positivt kontrollsnitt på samme objektglass som testvevet. Dette hjelper til med å identifisere eventuelle feil ved bruk av reagenser på objektglasset. Kontrollvev kan inneholde både positive og negative fargingsselementer og fungere som vev til både positiv og negativ kontroll.

Kontrollvevet må testes for hver kjøring.

Kjente positive vevskontroller bør kun benyttes for å overvåke korrekt ytelse for prosesserte vev og testreagenser, ikke som hjelpemiddel ved formulering av en spesifikk diagnostikk av pasientprøver.

Hvis de positive vevskomponentene ikke viser positiv farging, skal resultater med testprøvene anses som ugyldige. Hvis de negative komponentene viser positiv farging, bør resultater med pasientprøver også vurderes som ugyldige.

Uforklarlige avvik i kontrollresultater skal henvises til lokal brukerstøtte umiddelbart. Hvis kvalitetskontrollresultatene ikke oppfyller spesifikasjonene, er pasientresultatene ugyldige. Årsaken må identifiseres og korrigeres, og pasientprøvene må gjentas.

FARGINGSTOLKNING / FORVENTEDE RESULTATER

Congo Red Staining Kit ble testet for å vise amyloid.

- Amyloid (under lyst felt): rosa til lakserød
- Amyloid (under polarisert lys): eplegrønn dobbeltbrytning
- Kjerner: lilla med protokollalternativ 1
- Kjerner: blå med protokollalternativ 2
- Amyloid kan vises som sirkulære eller båndlignende rosa fargingsavleiringer gjennom hele vevet. Det har en særlig forkjærlighet for avleiring i blodårevegger og kjellermembraner. Keratin, elastiske og tette kollagenfibre kan lagre Congo-rødt-fargestoffet. Dobbel lysbrytningsevne er en iboende egenskap ved komplekset av amyloidfibrill og Congo-rødt.^{7,8} Uten verken den rosa til lakserøde fargingen av Congo-rødt under lyst felt og eplegrønn dobbel lysbrytningsevne under polarisert lys kan ikke en absolutt identifisering av amyloid utføres.

SPESIFIKKE BEGRENSNINGER

Bare positivt ladede objektglass for mikroskop er brukt og validert for denne analysen.

YTELSESEGESKAPER

ANALYTISK YTELSE

Det ble gjennomført fargingstester for sensitivitet, spesifisitet og presisjon, og resultatene er oppført nedenfor.

Sensitivitet og spesifisitet

Analytisk sensitivitet og spesifisitet ble evaluert i amyloidpositive vev (forskjellige vevstyper) og normal hud. Begge protokollalternativer (alternativ 1 og alternativ 2) ble testet på alle vevstifeller angitt i Tabell 3. Alle evaluerte vevstifeller (60/60) fikk bestått for akseptabel farging slik det fremgår av Tabell 3.

Tabell 3. Sensitiviteten/spesifisiteten til Congo Red Staining Kit ble bestemt ved å teste følgende normale og syke FFPE-vev.

Vev	Antall bestått/antall testet
Amyloidpositive vev (forskjellige vevstyper*)	45 / 45
Normal hud	15 / 15

*Testede vev omfatter blant annet skjoldbruskkjertel, prostatakjertel, lever, mage, kolon, bløtvev og lunge.

Presisjon

Presisjonen av Congo Red Staining Kit ble bestemt over flere kjøringer, dager, instrumenter og reagensluter ved hjelp av flere objektglass med snitt fra forskjellige amyloidpositive vev (skjoldbruskkjertel, prostatakjertel, lever, mage, kolon, bløtvev og lunge) ved hjelp av protokollalternativ 1. Alle akseptkriterier ble oppfylt fullt ut. Presisjonsstudier ble utført for Congo Red Staining Kit i samsvar med Tabell 4.

Tabell 4. Presisjonsstudier på objektglass for Congo Red Staining Kit.

Testede parametere	Antall vilkår	Antall bestått/ Antall testet
Mellom kjøringer	3 kjøringer, samme dag	54 / 54
Mellom dager	5 dager	90 / 90
Mellom instrumenter	3 instrumenter	54 / 54
Innenfor kjøring	samme dag, samme instrument	54 / 54
Lot til lot	3 loter	54 / 54

Resultatene viste ingen signifikant differanse i fargingsintensitet blant objektglassene.

FEILSØKING

1. Snittykkelse kan påvirke kvalitet og fargingsintensitet. Hvis fargingen er uegnet, må du kontakte lokal brukerstøtte for å få hjelp.
2. Nekrotisk eller autolyt vev kan vise ikke-spesifikk farging.
3. Hvis den positive kontrollen er negativ, kan vev ha blitt feil samlet inn, fiksert eller avparafinert. Riktig prosedyre må følges ved innsamling, oppbevaring og fiksering.
4. Hvis den positive kontrollen er negativ, skal det kontrolleres at objektglasset har riktig strekkodeetikett. Hvis objektglasset merkes på riktig måte, må du kontrollere de andre positive kontrollene fra samme kjøring for å avgjøre om kontrollene ble farget på riktig måte.
5. Hvis det forekommer for mye bakgrunnsfarging: Ufullstendig parafinjerning kan forårsake fargingsartefakter eller ingen farging. Hvis all parafin ikke fjernes fra objektglasset, må du gjenta fargekjøringen med det utvidede avparafiniseringsalternativet, hvis det er tilgjengelig.
6. Hvis vevssnitt vaskes av objektglasset, må du bekrefte at objektglassene er positivt ladet.
7. Tykkere snitt viser amyloidavleiringer mer effektivt, mens tynnere snitt kanskje ikke viser den eplegrønne dobbeltbrytningen.
8. Fargingsintensitet reduseres med snittenes alder; ferske snitt gir en mer intens fargingsreaksjon.
9. Det er viktig å dehydrere objektglass grundig og evaluere umiddelbart. Som med manuell farging kan Congo-rødt ekstraheres under langvarig eksponering for alkohol under dehydrering.
10. Hvis objektglassene blir værende for lenge i instrumentet etter endt kjøring, kan det påvirke fargens kvalitet og intensitet. Hvis fargingen er uegnet, må du fjerne objektglassene umiddelbart etter endt kjøring og fortsette med prosedyren etter instrumentprosessering.
11. Du finner korrigerende tiltak i avsnittet Bruksanvisning i instrumentets brukerhåndbok eller ved å kontakte lokal brukerstøtte.

REFERANSER

1. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
2. Gilbertson JA. Amyloid. In: Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 2019;231-253.
3. Dapson RW. Amyloid from a Histochemical Perspective. A Review of the Structure, Properties and Types of Amyloid, and a Proposed Staining Mechanism for Congo Red Staining. Biotech Histochem. 2018;93(8):543-556.
4. Mollee P, Renaut P, Gottlieb D, et al. How to Diagnose Amyloidosis. Intern Med J. 2014;44(1):7-17.
5. Gertz MA, Dispenzieri A. Systemic Amyloidosis Recognition, Prognosis, and Therapy: A Systematic Review. JAMA. 2020;324(1):79-89.
6. Wheeler PR, Burkitt HG. Basic Histopathology, 2nd edition. New York: Churchill Livingstone; 1991.
7. Navarro A, Tolivia J, Valle E. Congo Red Method for Demonstrating Amyloid in Paraffin Sections. J Histotechnol. 1999;22(4):305-308.
8. Fredenburgh JL, Grizzle WE. Special Stains: Their Chemical Mechanism. Chicago: ASCP Press; 1998.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI Web site. <http://www.clsi.org/>. Accessed November 3, 2011.
10. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
11. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

MERK: Et punktum brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Det brukes ikke skilletegn for tusener.

Symboler

Ventana bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er oppført i ISO 15223-1-standard (for USA: se elabdoc.roche.com/symbols for definisjon av symboler som brukes):



Globalt artikkelnummer



Unik utstyrsidentifikator



Angir foretaket som importerer det medisinske utstyret til EU

REVISJONSHISTORIKK

Rev	Oppdateringer
H	Oppdateringer av avsnittene Advarsler og forholdsregler samt Referanser.

OPPHAVSRETT

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

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTINFORMASJON



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

www.roche.com



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

