

Congo Red Staining Kit

REF

860-026

05279429001

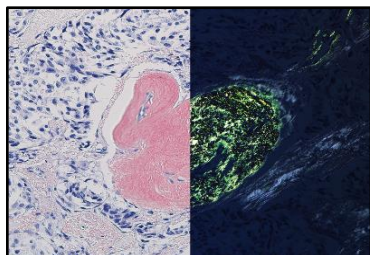
IVD
 40


Fig. 1. Congo Red Staining Kit-färgning av amyloid i lungvävnad, ljusfält (vänster) och polariserat ljus (höger).

AVSEDD ANVÄNDNING

Congo Red Staining Kit är avsett för laboratoriebruk som en kvalitativ histologisk färgning för att påvisa amyloid i snitt av formalinfixerad, paraffinbäddad (FFPE) vävnad som färgats på ett BenchMark Special Stains-instrument.

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

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

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Congo Red Staining Kit är en modifiering av Highmans teknik.¹

År 1922 upptäcktes användningen av den röda färgningen Congo för att påvisa amyloid av Bennhold.² Färgens väte binder till β -vikta ark av amyloid och är känd för att binda till alla former av amyloid.² Moget amyloid innehåller fibriller, från 0.1 till 10 μ m långa, som sätts samman för att bilda olösligt plack som är resistent mot nedbrytning.³

Ansamling av olösliga amyloidfibriller i extracellulära utrymmen kan leda till amyloidos.^{4,5} Det finns flera typer av amyloidos och var och en kännetecknas av förekomst av olösligt amyloidplack och/eller -massa, vilket kan leda till cellskador och störa normal organfunktion.^{2,4}

Congo Red Staining Kit påvisar amyloid för att hjälpa patologen vid diagnostisering av amyloidos.

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

Färgningsreaktionen baseras på användningen av Congo Red Stain, som färgar mönstren av atypiska proteiner (amyloid) rosa till laxfärgade. Congo Red Buffer tillsätts för att differentiera färgningen. Congo Red Hematoxylin, en Mayers hematoxylinlösning, används för att skapa kontrasterande blå till lila nukleär färgning. De β -vikta arken av amyloid är lämpliga i storlek och form för att rymma molekylerna i Congo-rött, vilka hamnar i gallerverket av β -vikta ark.⁶ Dubbelbrytning är en inneboende egenskap hos Congo-röttkomplexet för amyloidfibriller.^{7,8}

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

MEDFÖLJANDE MATERIAL

Reagensflaskorna levereras i streckodsmärkta bärare som sätts in i reagensbrickan på instrumentet. Varje kit innehåller tillräckligt med reagens för 40 tester.

En 19 mL flaska Congo Red Stain innehåller cirka 0.1 % Congo-rött och 70 % isopropanol.

En 13 mL flaska Congo Red Buffer innehåller cirka 0.5 % glycin och 2.0 % natriumklorid.

En 19 mL flaska Congo Red Hematoxylin innehåller modifierat Mayers hematoxylin.

Tre flaskinsatser med aspireringsrör.

Rekonstituering, blandning, spädning, titrering

Ingen rekonstituering, blandning, spädning eller titrering krävs. Ytterligare spädning av något av reagenserna kan leda till otillfredsställande färgning.

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

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

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

Följande reagenser och material kan behövas vid färgning men medföljer ej:

1. Rekommenderad kontrollvävnad
2. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
3. BenchMark Special Stains-instrument
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (kat. nr 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (kat. nr 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (kat. nr 860-041 / 08309817001)
7. Laboratorieutrustning för allmänt bruk

FÖRVARING OCH STABILITET

Congo Red Staining Kit ska förvaras vid 2–8 °C. Låt de kitkomponenter som förvaras i kylskåp uppnå rumstemperatur före användning.

Vid korrekt förvaring är öppnade och öppnade reagenser stabila fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte reagens efter det utgångsdatum som anges på kitet.

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

PROVBEREDNING

Vid rutinmässig bearbetning behövs FFPE-vävnader för användning med denna produkt och BenchMark Special Stains-instrument. Rekommenderat vävnadsfixeringsmedel är 10 % neutralbuffrad formalin.¹

Utför provtagning och förvaring enligt CLSI-dokumentet M29 T2.⁹ Skär snitt i lämplig tjocklek, cirka 8 μ m, och placera snitten på positivt laddade objektglas.

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

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

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

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

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

Tab. 1. Information om risker.

Risk	Kod	Betydelse
     	H225	Extremt brandfarlig vätska och ånga.
	H315	Orsakar hudirritation.
	H319	Orsakar allvarig ögonirritation.
	H336	Kan orsaka dåsighet eller yrsel.
	H350	Kan orsaka cancer.
	H373	Kan orsaka organskador vid långvarig eller upprepad exponering.
	P201	Följ specialinstruktioner före användning.
	P210	Undvik värme, heta ytor, gnistor, öppen låga och andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
	P260	Andas inte in dimma eller ångor.
	P280	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd.
	P308+P313	Vid exponering eller oro: Sök läkarhjälp.
	P370+P378	Vid brand: Använd torr sand, torrt kemiskt eller alkoholbeständigt skum för att släcka.

EUH208: Denna produkt innehåller natriumjodat. Kan framkalla allergisk reaktion.

BRUKSANVISNING

Förbereda reagensrör

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

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

Färgningsprocedur

1. Ladda reagenser och objektglas på instrumentet.
2. Sätt det mjuka locket i skåran på reagenshållaren när reagensen används.
3. Utför färgningskörningen enligt det rekommenderade protokollet i Tab. 2 och anvisningarna i användarhandboken.
4. Avlägsna objektglasen från instrumentet när körningen är slutförd.
5. Sätt det mjuka locket på reagensflaskan när reagensen inte används.

Rekommenderat protokoll

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

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

Tab. 2. Rekommenderat färgningsprotokoll för Congo Red Staining Kit på ett BenchMark Special Stains-instrument.

Färgningsprocedur	S Congo Red
Protokollsteg	Metod
Avparaffinering	Välj för att automatisera borttagning av paraffin.
Bakning (valfritt)	Standardvärdet har inte valts. 75 °C i 4 minuter rekommenderas.
Alternativ 1 eller Alternativ 2	Standardvärdet är Alternativ 1. Välj alternativ 1 eller alternativ 2: • Alternativ 1 kommer att dispensera Congo Red Stain och sedan Hematoxylin, kärnorna kommer att bli lila. • Alternativ 2 kommer att dispensera Hematoxylin och sedan Congo Red Stain, kärnorna kommer att bli blå.
Alternativ 1	
Optimera färgningsintensitet (C. Red Stain)	Alternativ 1 är 37 °C i 24 minuter. Välj för att möjliggöra justering av färgningsintensiteten:* Välj temperatur mellan 37–60 °C: • 37 °C, ljusare färgning av amyloid • 60 °C, mörkare färgning av amyloid Välj en inkubationstid på 20–32 minuter: • 20 minuter, ljusare färgning av amyloid • 32 minuter, mörkare färgning av amyloid
Optimera intensitet för Hematoxylin (C. Red Hematoxylin)	Standarden för Alternativ 1 är 12 minuter. Välj för att optimera hematoxylin*: • 4 minuter, ljusare nukleär färgning • 16 minuter, mörkare nukleär färgning
Alternativ 2	
Optimera intensitet för Hematoxylin (C. Red Hematoxylin)	Standarden för Alternativ 2 är 8 minuter. Välj för att optimera hematoxylin*: • 4 minuter, ljusare nukleär färgning • 16 minuter, mörkare nukleär färgning
Optimera intensitet för Congo Red (C. Red Stain)	Standarden för Alternativ 2 är 48 minuter. Välj för att möjliggöra justering av färgningsintensiteten:* Välj en inkubationstid på 32–48 minuter: • 32 minuter, ljusare färgning av amyloid • 48 minuter, mörkare färgning av amyloid

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

Rekommenderad efterbehandling av instrument

- Skölj objektglaset i tre omgångar av 100 % etanol i 5–10 sekunder vardera med varsam omrörning för att avlägsna restlösning.
- Dehydrera objektglaset i tre omgångar av 100 % xylol i 5–10 sekunder vardera med varsam omrörning.
- Täckglas med permanenta monteringsmedia.
- Kompatibel med VENTANA HE 600-systemets täckningsprotokoll. Ytterligare anvisningar finns i VENTANA HE 600-systemets användarhandbok.

PROCEDUR FÖR KVALITETSKONTROLL

Exempel på positivt kontrollmaterial är human FFPE-vävnad som är positiv för amyloid, till exempel vävnad från en patient med amyloidos.¹ Kontrollvävnad bör utgöras av färiska obduktions-, biopsi- eller kirurgiska prover, vilka preparerats eller fixerats så tidigt som möjligt på ett sätt som är identiskt med behandlingen av testsnittet. Sådana vävnader bör utgöra kontroll för alla steg i analysen, från vävnadsberedning till färgning.

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

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

Kontrollvävnaden måste testas vid varje körning.

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

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

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

TOLKNING AV FÄRGNINGSRESULTAT / FÖRVÄNTADE RESULTAT

Congo Red Staining Kit har testats för att påvisa amyloid.

- Amyloid (under ljusfält): rosa till laxrosa
- Amyloid (under polariserat ljus): äppelgrön dubbelbrytning
- Kärnor: lila med protokollalternativ 1
- Kärnor: blå med protokollalternativ 2
- Amyloid kan uppträda som cirkulära eller bandliknande rosa färgavlagringar i hela vävnaden. Det har en särskild förmåga att avsättas i blodkärlsvägg och källarmembran. Keratin, elastiska och täta kollagenfibrer kan ta upp färgämnet Congo-rött. Dubbelbrytning är en inneboende egenskap hos Congo-röttkomplexet för amyloidfibriller.^{7,8} Utan både den rosa till laxrosa färgningen av Congo-rött under ljusfält och den äppelgröna dubbelbrytningen under polariserat ljus kan en definitiv identifiering av amyloid inte göras.

SPECIFIKA BEGRÄNSNINGAR

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

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

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

Sensitivitet och specificitet

Analytisk sensitivitet och specificitet utvärderades i amyloidpositiva vävnader (olika vävnadstyper) och normal hud. Båda protokollalternativen (Alternativ 1 och Alternativ 2) testades i alla vävnadsfall som listades i Tab. 3. Alla utvärderade vävnadsfall (60/60) har godkänts för godtagbar färgning som det visas i Tab. 3.

Tab. 3. Sensitivitet/specificitet för Congo Red Staining Kit fastställdes genom att testa följande normala och sjuka FFPE-vävnader.

Vävnad	Antal godkända/antal testade
Amyloidpositiva vävnader (olika vävnadstyper*)	45 / 45
Normal hud	15 / 15

*Provade vävnader inkluderar men är inte begränsade till vävnader från sköldkörtel, prostata, lever, magsäck, kolon, mjukvävnad och lunga.

Precision

Precisionen för Congo Red Staining Kit fastställdes mellan olika körningar, dagar, instrument och reagenssatser med hjälp av flera skurna snitt från olika amyloidpositiva vävnader (sköldkörtel, prostata, lever, magsäck, kolon, mjukvävnad och lunga) med hjälp av protokollalternativ 1. Alla acceptanskriterier var helt uppfylla. Precisionsstudier utfördes för Congo Red Staining Kit enligt Tab. 4.

Tab. 4. Precisionsstudier på objektglas för Congo Red Staining Kit.

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

Resultaten visade ingen betydande skillnad i färgningsintensitet mellan objektglaset.

FELSÖKNING

- Snittjockleken kan påverka färgningens kvalitet och intensitet. Kontakta din lokala supportrepresentant för att få hjälp om färgningen är olämplig.
- Nekrotisk eller autolyserad vävnad kan uppvisa icke-specifik färgning.
- Om den positiva kontrollen är negativ kan vävnaden ha samlats in, fixerats eller avparaffinerats på fel sätt. Följ korrekt procedur för insamling, förvaring och fixering.
- Om den positiva kontrollen är negativ ska du kontrollera att objektglaset har rätt streckkodsetikett. Om objektglaset är korrekt märkt ska du kontrollera de andra positiva kontrollerna från samma körning för att fastställa om kontrollerna har färgats korrekt.
- Om för kraftig bakgrunds-färgning inträffar: ofullständig paraffinborttagning kan orsaka färgningsartefakter eller ingen färgning. Om allt paraffin inte har tagits bort från objektglaset ska du upprepa färgningskörningen med alternativet förlängd avparaffinering, om tillgängligt.
- Om vävnadssnitt sköljs av objektglaset ska du kontrollera att objektglaset är positivt laddade.
- Tjockare snitt uppvisar amyloidavlagringar mer effektivt, medan tunnare snitt kanske inte visar den äppelgröna dubbelbrytningen.
- Färgningsintensiteten minskar med snittens ålder. Nyskurna snitt ger en intensivare färgningsreaktion.
- Det är viktigt att dehydrera objektglaset noggrant och utvärdera dem snabbt. Precis som vid manuell färgning kan Congo-rött extraheras vid långvarig exponering för alkohol under dehydrering.
- Längre förvaring av objektglaset på instrumentet efter avslutad körning kan påverka färgningens kvalitet och intensitet. Vid felaktig färgning ska du omedelbart ta bort objektglaset i slutet av körningen och gå vidare till postinstrumental efterbehandling.
- Mer information om korrigerande åtgärder hittar du i avsnittet Bruksanvisning i instrumentets användarhandbok eller genom att kontakta din lokala supportrepresentant.

REFERENSER

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.

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

Symboler

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



Globalt artikelnummer



Unik enhetsidentifiering



Anger den enhet som importerar den medicintekniska produkten till Europeiska unionen

REVISIONSHISTORIK

Rev.	Uppdateringar
H	Uppdateringar av avsnitten för Varningar och försiktighetsåtgärder samt Referenser.

IMMATERIELL EGENDOM

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

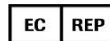
© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTUPPGIFTER



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

www.roche.com



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

