

Congo Red Staining Kit

REF

860-026

05279429001

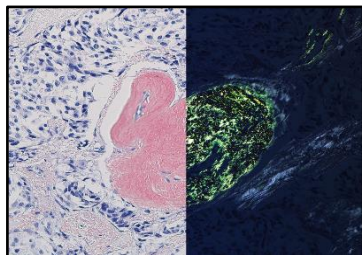
IVD
 40


Figure 1. Coloration de la substance amyloïde avec le Congo Red Staining Kit dans une coupe de tissu pulmonaire observée en champ clair (gauche) et en lumière polarisée (droite).

UTILISATION PREVUE

Le Congo Red Staining Kit est destiné à une utilisation en laboratoire en tant que colorant histologique qualitatif pour mettre en évidence en microscopie optique la substance amyloïde dans les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) colorées sur l'appareil BenchMark Special Stains.

Ce produit doit être interprété par un anatomopathologiste qualifié, en complément d'examens histologiques, d'informations cliniques pertinentes et de contrôles adaptés.

Ce produit est conçu pour une utilisation en diagnostic in vitro (IVD).

RESUME ET EXPLICATION

Le Congo Red Staining Kit est une modification de la technique de Highman.¹

L'utilisation du rouge Congo pour la détection de la substance amyloïde a été découverte par Bennhold en 1922.² Le colorant forme des liaisons hydrogène avec les feuillets plissés β de toutes les formes de la substance amyloïde.² La substance amyloïde mature contient des fibrilles d'une longueur allant de 0.1 à 10 μ m, qui s'assemblent pour former des plaques insolubles résistantes à la dégradation.³

L'accumulation de fibrilles amyloïdes insolubles dans les espaces extracellulaires peut conduire à une amylose.^{4,5} Il existe plusieurs types d'amylose, chacun étant caractérisé par la présence de plaques et/ou de masses amyloïdes insolubles qui peuvent conduire à des lésions cellulaires et perturber la fonction normale de l'organe affecté.^{2,4}

Le Congo Red Staining Kit est utilisé pour mettre en évidence la substance amyloïde pour aider l'anatomopathologiste à diagnostiquer l'amylose.

PRINCIPE DE LA PROCEDURE

La réaction de coloration repose sur l'application du Congo Red Stain, qui colore les profils de protéines atypiques (amyloïdes) du rose au saumon. Le Congo Red Buffer est ajouté pour différencier la coloration. La Congo Red Hematoxylin, une solution d'hématoxyline selon Mayer, est utilisée pour produire une coloration nucléaire contrastante bleue à violette. La taille et la forme des feuillets plissés β de la substance amyloïde permettent aux molécules de rouge Congo de s'insérer dans les plis des feuillets.⁶ La biréfringence est une propriété intrinsèque du complexe formé entre le rouge Congo et les fibrilles amyloïdes.^{7,8}

Ce kit est optimisé pour une utilisation sur un appareil BenchMark Special Stains. Les réactifs sont appliqués sur les tissus étalés sur les lames de microscope et mélangés sur l'intégralité de la surface de l'échantillon.

MATERIEL FOURNI

Les flacons de réactif sont fournis dans des portoirs identifiés par des étiquettes code-barres, qui sont insérés dans le plateau de réactifs de l'appareil. Chaque kit contient suffisamment de réactifs pour 40 tests.

Un flacon de 19 mL de Congo Red Stain contient environ 0.1 % de rouge Congo et 70 % d'isopropanol.

Un flacon de 13 mL de Congo Red Buffer contient environ 0.5 % de glycine et 2.0 % de chlorure de sodium.

Un flacon de 19 mL de Congo Red Hematoxylin contient de l'hématoxyline modifiée selon Mayer.

Trois inserts de flacon avec des pailles.

Reconstitution, mélange, dilution, titration

Aucune étape de reconstitution, mélange, dilution ou titration n'est nécessaire. Une dilution plus poussée des réactifs peut conduire à une coloration non optimale.

Les réactifs de ce kit ont été dilués de façon optimale pour une utilisation sur l'appareil BenchMark Special Stains.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Il est possible que certains produits indiqués dans la fiche technique ne soient pas disponibles dans certains pays. Contacter un représentant du service client local.

Les réactifs et le matériel suivants peuvent être nécessaires pour la coloration, mais ne sont pas fournis :

1. Tissus de contrôle recommandés
2. Lames de microscope chargées positivement
3. Appareil BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (réf. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (réf. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (réf. 860-041 / 08309817001)
7. Matériel courant de laboratoire

CONSERVATION ET STABILITE

Le Congo Red Staining Kit doit être conservé entre 2 et 8 °C. Les composants du kit réfrigérés doivent être équilibrés à température ambiante avant leur utilisation.

S'ils sont conservés correctement, les réactifs ouverts et non ouverts sont stables jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration indiquée sur le kit.

Étant donné qu'il n'existe aucun signe évident indiquant l'instabilité de ces réactifs, des contrôles doivent toujours être testés en même temps que les échantillons inconnus. Contacter un représentant du service client local si une baisse de la coloration du contrôle positif est constatée, car cela peut être l'indication de l'instabilité des réactifs.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les tissus utilisés avec ce produit et les appareils BenchMark Special Stains doivent être des tissus FFPE préparés en routine. Le fixateur de tissus recommandé est le formol neutre tamponné à 10 %.¹

Prélever les échantillons et les conserver conformément au document M29 T2 du CLSI.⁹ Préparer des coupes d'une épaisseur appropriée (environ 8 μ m), et les monter sur des lames de verre positivement chargées.

1. Sécher les lames.¹
2. Imprimer une ou plusieurs étiquettes code-barres appropriées.
3. Apposer les étiquettes code-barres sur l'extrémité dépolie des lames avant de les charger sur l'appareil (voir les instructions pour l'apposition correcte des étiquettes dans le guide d'utilisation de l'appareil).

Se reporter à la rubrique Mode d'emploi pour le protocole recommandé pour l'appareil BenchMark Special Stains.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour utilisation en diagnostic in vitro (IVD).
2. Pour utilisation professionnelle uniquement.
3. **ATTENTION** : Aux États-Unis, la loi fédérale stipule que ce produit peut être vendu uniquement par un médecin ou sur prescription médicale. (Rx Only)
4. Ne pas utiliser au-delà du nombre de tests indiqué.
5. Les conditions ambiantes peuvent affecter les lames chargées positivement et conduire à une coloration inappropriée. Un représentant Roche pourra fournir plus d'informations sur l'utilisation de ces types de lames.
6. Les produits d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme susceptibles de présenter un risque biologique et être éliminés en prenant les précautions appropriées. En cas d'exposition à un tel produit, il convient de respecter les directives des autorités de santé compétentes.^{10,11}
7. Éviter tout contact des yeux et des muqueuses avec les réactifs. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau.
8. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.

9. Pour plus d'informations sur l'utilisation de ce produit, se référer au guide d'utilisation de l'appareil BenchMark Special Stains et au mode d'emploi de tous les composants nécessaires à l'adresse navifyportal.roche.com.
10. Consulter les autorités locales et/ou nationales pour connaître la méthode d'élimination recommandée.
11. L'étiquetage de sécurité des produits suit principalement les directives SGH de l'UE. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les utilisateurs professionnels.
12. Pour signaler toute suspicion d'événement grave lié à ce dispositif, contacter un représentant Roche local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel le dispositif est utilisé.

Ce produit contient des composants classés comme suit conformément au Règlement (CE) N° 1272/2008 :

Tableau 1. Mentions de danger.

Danger	Code	Mention
  	H225	Liquide et vapeurs hautement inflammables.
	H315	Provoque une irritation cutanée.
	H319	Provoque une sévère irritation des yeux.
	H336	Peut provoquer somnolence ou vertiges.
	H350	Peut provoquer le cancer.
	H373	Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.
	P201	Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
	P210	Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et d'autres sources d'ignition. Ne pas fumer.
	P260	Ne pas inhaler le brouillard ou les vapeurs.
	P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/de l'ouïe.
	P308+P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.
	P370+P378	En cas d'incendie : utiliser du sable sec, une poudre chimique ou une mousse résistant aux alcools pour l'extinction.

EUH208 : ce produit contient de l'iodate de sodium. Peut produire une réaction allergique.

MODE D'EMPLOI

Préparation du flacon de réactif

Avant la première utilisation, un insert de flacon et une paille doivent être mis en place dans le flacon de réactif.

Retirer le bouchon d'expédition du flacon et mettre en place l'insert et la paille dans le flacon. Une fois le flacon ouvert, l'insert et la paille doivent être laissés en place dans le flacon.

Procédure de coloration

1. Charger les réactifs et les lames sur l'appareil.
2. Pendant l'utilisation du réactif, ranger le bouchon souple dans la fente sur le support de réactifs.

3. Exécuter le cycle de coloration conformément au protocole recommandé dans Tableau 2 et aux instructions du guide d'utilisation.
4. Une fois le cycle terminé, retirer les lames de l'appareil.
5. Boucher le flacon de réactif avec le bouchon souple lorsque le réactif n'est pas utilisé.

Protocole recommandé

Les paramètres des procédures automatisées peuvent être affichés, imprimés et modifiés conformément à la procédure décrite dans le guide d'utilisation de l'appareil.

Les procédures suivantes sont adaptables aux préférences de l'utilisateur. Même si ce produit a été optimisé pour une utilisation sur les appareils BenchMark Special Stains, l'utilisateur doit tout de même valider les résultats obtenus avec ce produit.

Tableau 2. Protocole de coloration recommandé pour le Congo Red Staining Kit sur un appareil BenchMark Special Stains.

Procédure de coloration	S Congo Red
Étape du protocole	Méthode
Déparaffinage	À sélectionner pour exécuter le déparaffinage automatique.
Séchage (facultatif)	Le réglage par défaut n'est pas sélectionné. Séchage recommandé à 75 °C pendant 4 minutes.
Option 1 ou option 2	L'option par défaut est l'option 1. Sélectionner l'option 1 ou l'option 2 : - L'option 1 applique le Congo Red Stain avant l'Hematoxylin, les noyaux sont colorés en violet. - L'option 2 applique l'Hematoxylin avant le Congo Red Stain, les noyaux sont colorés en bleu.
Option 1	
Optimisation de l'intensité de la coloration (C. Red Stain)	La température par défaut de l'option 1 est de 37 °C pendant 24 minutes. À sélectionner pour permettre l'ajustement de l'intensité de la coloration.* Sélectionner une température de 37 à 60 °C : 37 °C : coloration plus claire de la substance amyloïde 60 °C : coloration plus foncée de la substance amyloïde Sélectionner une durée d'incubation de 20 à 32 minutes : 20 minutes : coloration plus claire de la substance amyloïde 32 minutes : coloration plus foncée de la substance amyloïde
Optimisation de l'intensité de l'Hematoxylin (C. Red Hematoxylin)	La durée d'incubation par défaut de l'option 1 est de 12 minutes. À sélectionner pour optimiser l'hématoxyline* : 4 minutes, coloration nucléaire plus claire 16 minutes, coloration nucléaire plus sombre
Option 2	
Optimisation de l'intensité de l'Hematoxylin (C. Red Hematoxylin)	La durée d'incubation par défaut de l'option 2 est de 8 minutes.

Procédure de coloration	S Congo Red
Étape du protocole	Méthode
	À sélectionner pour optimiser l'hématoxyline* : 4 minutes, coloration nucléaire plus claire 16 minutes, coloration nucléaire plus sombre
Optimisation de l'intensité du Congo Red (C. Red Stain)	La durée d'incubation par défaut de l'option 2 est de 48 minutes. À sélectionner pour permettre l'ajustement de l'intensité de la coloration.* Sélectionner une durée d'incubation de 32 à 48 minutes : 32 minutes : coloration plus claire de la substance amyloïde 48 minutes : coloration plus foncée de la substance amyloïde

* Pour ajuster la coloration à sa convenance, augmenter la température de coloration et la durée d'incubation d'un paramètre à la fois.

Procédure recommandée après traitement sur l'appareil

- Rincer les lames dans trois bains successifs d'éthanol à 100 % pendant 5 à 10 secondes chacun avec agitation légère pour éliminer la solution résiduelle.
- Déshydrater les lames dans trois bains successifs de xylène à 100 % pendant 5 à 10 secondes chacun avec agitation légère.
- Coverslip (LCS) avec du milieu de montage permanent.
- Compatible avec le protocole de montage du système VENTANA HE 600. Pour davantage d'instructions, se reporter au guide d'utilisation du système VENTANA HE 600.

PROCEDURE DE CONTROLE QUALITE

Un exemple de tissu de contrôle positif est un tissu humain FFPE positif pour la substance amyloïde d'un patient atteint d'amylose.¹ Le tissu de contrôle doit être un échantillon fraîchement prélevé lors d'une autopsie, d'une biopsie ou d'une intervention chirurgicale et préparé ou fixé dès que possible après le prélèvement et de manière identique aux coupes à tester. Un tel tissu peut servir de contrôle à toutes les étapes de l'analyse, de la préparation des tissus à leur coloration.

L'utilisation d'une coupe de tissu fixé et préparé d'une autre manière que l'échantillon à tester sert de contrôle pour tous les réactifs et toutes les étapes de la méthode, sauf la fixation et la préparation du tissu. Les composants cellulaires des autres éléments tissulaires peuvent servir de contrôle négatif.

Il est considéré comme bonne pratique de laboratoire d'inclure une coupe de tissu de contrôle positif sur la même lame que le tissu à tester. Cela permet d'identifier tout problème d'application des réactifs sur la lame. Le tissu de contrôle peut comprendre à la fois des éléments positifs et des éléments négatifs à la coloration et peut servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif.

Le tissu de contrôle doit être testé à chaque cycle de coloration.

Des tissus de contrôle positif connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier les performances des tissus traités et des réactifs du test, et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur les échantillons des patients.

Si les composants tissulaires qui devraient être positifs ne présentent pas de coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons testés doivent alors être considérés comme non valides. Si les composants qui devraient être négatifs présentent une coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons des patients doivent aussi être considérés comme non valides.

Tout écart inexplicable par rapport aux résultats attendus pour les contrôles doit être signalé à un représentant du service client local. Si les résultats des contrôles qualité ne sont pas conformes aux spécifications, les résultats des patients sont non valides. La cause doit être identifiée et corrigée, et les échantillons des patients doivent être retestés.

INTERPRETATION DE LA COLORATION / RESULTATS ATTENDUS

Le Congo Red Staining Kit est utilisé pour mettre en évidence la substance amyloïde.

- Substance amyloïde (en champ clair) : rose à saumon
- Substance amyloïde (sous lumière polarisée) : biréfringence vert pomme
- Noyaux : violet avec l'option 1 du protocole
- Noyaux : bleu avec l'option 2 du protocole
- La substance amyloïde colorée en rose peut prendre l'aspect de dépôts circulaires ou en forme de rubans dans le tissu. La substance amyloïde a une tendance particulière à se déposer dans la paroi des vaisseaux sanguins et les membranes basales. La kératine, les fibres de collagène denses et les fibres élastiques peuvent retenir le rouge Congo. La biréfringence est une propriété intrinsèque du complexe formé entre le rouge Congo et les fibrilles amyloïdes.^{7,8} Sans la présence simultanée de la coloration rose à saumon du rouge Congo en champ clair et de la biréfringence vert pomme sous lumière polarisée, il n'est pas possible d'identifier avec certitude la substance amyloïde.

LIMITES SPECIFIQUES

Seules des lames de microscope chargées positivement ont été utilisées et validées pour ce test.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

PERFORMANCES ANALYTIQUES

Des tests de coloration ont été réalisés pour évaluer la sensibilité, la spécificité et la précision. Leurs résultats sont présentés ci-dessous.

Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité analytique ont été évaluées dans des tissus positifs pour la substance amyloïde (divers types de tissus) et dans de la peau normale. Les deux options du protocole (option 1 et option 2) ont été testées sur tous les cas de tissus indiqués dans le Tableau 3. Une coloration acceptable a été obtenue pour tous les cas de tissus évalués (60/60) (Tableau 3).

Tableau 3. Sensibilité et spécificité du Congo Red Staining Kit déterminées par coloration des tissus normaux et pathologiques FFPE suivants.

Tissu	Nb de cas concluants/nb de cas testés
Tissus positifs pour la substance amyloïde (divers types de tissus*)	45 / 45
Peau normale	15 / 15

*Les tissus testés comprenaient, entre autres, la thyroïde, la prostate, le foie, l'estomac, le côlon, le tissu mou et le poulmon.

Précision

La précision du Congo Red Staining Kit a été déterminée sur plusieurs cycles, plusieurs jours, plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs en utilisant plusieurs lames de divers tissus positifs pour la substance amyloïde (thyroïde, prostate, foie, estomac, côlon, tissu mou et poulmon) et l'option 1 du protocole. Tous les critères d'acceptation ont été entièrement satisfaits. Les études de précision du Congo Red Staining Kit ont été réalisées dans les conditions décrites dans le Tableau 4.

Tableau 4. Études de précision de la coloration des lames avec le Congo Red Staining Kit.

Paramètres testés	Nb de conditions	Nb de lames concluantes/nb de lames testées
Intercycles	3 cycles, le même jour	54 / 54
Interjours	5 jours	90 / 90
Interappareils	3 appareils	54 / 54
Intracycle	même jour, même appareil	54 / 54
Interlots	3 lots	54 / 54

Les résultats ne présentaient aucune différence significative de l'intensité de la coloration des lames.

RESOLUTION DES PROBLEMES

1. L'épaisseur des coupes peut affecter la qualité et l'intensité de la coloration. Si la coloration n'est pas satisfaisante, demander de l'aide au représentant du service client local.
2. Les tissus nécrotiques et autolysés peuvent présenter une coloration non spécifique.
3. Si le contrôle positif est négatif, le tissu n'a peut-être pas été correctement prélevé, fixé ou déparaffiné. Suivez la procédure appropriée pour le prélèvement, la conservation et la fixation.
4. Si le contrôle positif est négatif, vérifier si la lame porte la bonne étiquette code-barres. Si la lame est correctement étiquetée, vérifier les autres contrôles positifs du même cycle pour déterminer si les contrôles ont été correctement colorés.
5. Si la coloration de fond est excessive : un déparaffinage incomplet peut causer des artefacts de coloration ou être à l'origine d'une absence de coloration. Si toute la paraffine n'est pas éliminée de la lame, répéter le cycle de coloration en utilisant l'option Déparaffinage prolongé, si elle est disponible.
6. Si les coupes de tissu se détachent des lames, vérifier que les lames sont positivement chargées.
7. Les dépôts de substance amyloïde sont plus faciles à mettre en évidence dans les coupes épaisses, la biréfringence verte comme pouvant être difficile à détecter dans les coupes fines.
8. L'intensité de la coloration baisse avec l'ancienneté des coupes ; les coupes fraîchement préparées donnent une coloration plus intense.
9. Il est important de complètement déshydrater les coupes et de les évaluer le plus tôt possible. Comme pour la coloration manuelle, le rouge Congo risque d'être extrait en cas d'exposition prolongée à l'alcool pendant la déshydratation.
10. Le séjour prolongé des lames sur l'appareil après la fin du cycle peut affecter la qualité et l'intensité de la coloration. Si la coloration n'est pas satisfaisante, essayer de retirer les lames dès la fin du cycle et appliquer les procédures après traitement sur l'appareil sans attendre.
11. Pour les mesures correctives, consulter la rubrique Mode d'emploi ou le guide d'utilisation de l'appareil, ou contacter un représentant du service client local.

REFERENCES

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.

REMARQUE : dans ce document, le point est toujours utilisé comme séparateur décimal pour indiquer la séparation entre la partie entière et la partie décimale des nombres décimaux. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Symboles

Ventana utilise les symboles et les signes suivants en plus de ceux indiqués dans la norme ISO 15223-1 (pour les États-Unis, voir elabdoc.roche.com/symbols pour la définition des symboles utilisés) :



Code article international



Identifiant unique des dispositifs médicaux



Indique l'entité important le dispositif médical dans l'Union européenne

HISTORIQUE DES REVISIONS

Rév.	Mises à jour
H	Mises à jour des rubriques Avertissements et précautions d'emploi et Références.

PROPRIETE INTELLECTUELLE

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE et le logo VENTANA sont des marques commerciales de Roche. Toutes les autres marques commerciales appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

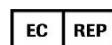
© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

COORDONNEES



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

