

Congo Red Staining Kit

REF

860-026

05279429001

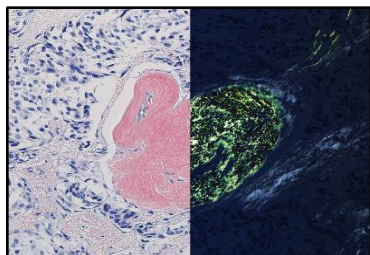
IVD
 40


Рис. 1. Congo Red Staining Kit, окрашивающий амилоид в легочной ткани, в светлом поле (слева) и поляризованном свете (справа).

результатов гистологического исследования и необходимых клинических данных после сравнения с соответствующими контролями.

Этот продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

Congo Red Staining Kit представляет собой модификацию техники, предложенной Highman.¹

В 1922 году Bennhold предложил использовать краситель Congo красный для детекции амилоида.² Краситель образует водородные связи с β-складчатыми листами амилоида; насколько известно, он связывается со всеми формами амилоида.² Зрелый амилоид содержит фибриллы от 0.1 до 10 мкм длиной, которые собираются в нерастворимые бляшки, устойчивые к разрушению.³

Накопление нерастворимых амилоидных фибрилл во внеклеточном пространстве может привести к развитию амилоидоза.^{4,5} Существует несколько типов амилоидоза, каждый из которых характеризуется наличием нерастворимых амилоидных бляшек и (или) масс, что может привести к повреждению клеток и нарушению нормального функционирования органов.^{2,4}

Congo Red Staining Kit выявляет амилоид, что помогает врачу-патологоанатому в диагностике амилоидоза.

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Реакция окрашивания основана на применении Congo Red Stain, при этом участки атипичных белков (амилоида) приобретают розовый или оранжево-розовый цвет. Congo Red Buffer добавляют, чтобы обеспечить дифференциацию окрашивания. Congo Red Hematoxylin, раствор гематоксилина Mayer, используется для контрастного окрашивания ядер от синего до фиолетового цвета. Структура β-складчатости амилоида подходит по размеру и форме для размещения молекул Congo красного, которые задерживаются в решетке β-складчатых листов.⁶ Комплекс амилоидных фибрилл и Congo красного обладает свойством двойного лучепреломления.^{7,8}

Данный набор оптимизирован для использования в приборах BenchMark Special Stains. Реагенты наносятся на ткань на предметном стекле для микроскопа и смешиваются на всей поверхности образца.

МАТЕРИАЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Флаконы с реагентом поставляются в маркированных штрихкодом носителях, которые помещают в лоток для реагентов прибора. Каждый набор содержит реагент в количестве, достаточном для проведения 40 тестов.

Один флакон объемом 19 мл Congo Red Stain содержит примерно 0.1 % Congo красного и 70 % изопропанола.

Один флакон объемом 13 мл Congo Red Buffer, содержащий примерно 0.5 % глицина и 2.0 % хлорида натрия.

Один флакон объемом 19 мл с Congo Red Hematoxylin содержит модифицированный гематоксилин Mayer.

Три вставки для флаконов с соломинками.

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование не требуется. Последующее разбавление какого-либо из реагентов может привести к недостаточному окрашиванию.

Реагенты в данном наборе были оптимально разбавлены для использования в приборах BenchMark Special Stains.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Продукты, перечисленные в технологической карте процесса, могут быть недоступны в некоторых странах. Проконсультируйтесь с представителем региональной службы поддержки.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки:

1. рекомендованная контрольная ткань;
2. предметные стекла для микроскопа с положительным зарядом;
3. прибор BenchMark Special Stains;
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (№ по каталогу 860-036 / 06523102001);
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (№ по каталогу 860-034 / 06523072001);
6. раствор BenchMark Special Stains Wash II (№ по каталогу 860-041 / 08309817001);
7. лабораторное оборудование общего назначения;

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Congo Red Staining Kit следует хранить при температуре 2–8 °C. Перед использованием охлажденные компоненты набора необходимо довести до комнатной температуры.

При условии надлежащего хранения вскрытые и невскрытые реагенты сохраняют свои свойства до даты, указанной на упаковке. Не использовать реагент после истечения срока годности, указанного на этикетке набора.

Признаки, однозначно свидетельствующие о нестабильности данных реагентов, отсутствуют. По этой причине одновременно с исследованием неизвестного образца следует проводить циклы определения на контролях. Если материалы для положительного контроля демонстрируют более слабое окрашивание, свяжитесь с представителем региональной службы поддержки, так как это может быть признаком нестабильности реагентов.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Обработанные стандартным способом фиксированные формалином и залитые в парафин (FFPE) ткани необходимо использовать с данным продуктом и в приборах BenchMark Special Stains. В качестве фиксатора ткани рекомендуется использовать 10 % нейтральный забуференный формалин.¹

Выполняйте забор и хранение образцов в соответствии с документом CLSI M29 T2.⁹ Сделайте срезы соответствующей толщины, приблизительно 8 мкм, и поместите их на предметные стекла с положительным зарядом.

1. Высушите предметные стекла.
2. Распечатайте соответствующие этикетки со штрихкодами.
3. Наклейте этикетки со штрихкодами на матовый конец предметных стекол перед их загрузкой в прибор (правильное размещение этикеток см. в руководстве пользователя конкретного прибора).

Рекомендованный протокол для прибора BenchMark Special Stains см. в разделе «Инструкция по применению».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики in vitro (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. **ВНИМАНИЕ!** Федеральный закон США разрешает продажу этого изделия только врачам или по предписанию врача. (Rx Only)
4. Не использовать для проведения количества тестов, превышающего указанное.

5. Предметные стекла с положительным зарядом могут быть чувствительными к воздействию факторов окружающей среды, что ведет к некорректному окрашиванию. Обратитесь к представителю сервисной службы компании Roche для получения более подробной информации об использовании данного типа предметных стекол.
6. Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности. В случае контакта с ними необходимо следовать руководящим указаниям ответственных здравоохранительных органов.^{10,11}
7. Избегайте контакта реагентов с глазами и слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки ополаскивайте их достаточным количеством воды.
8. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.
9. Дальнейшую информацию по использованию устройства см. в руководстве пользователя прибора BenchMark Special Stains и инструкциях по применению всех необходимых компонентов на веб-сайте navifyportal.roche.com.
10. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными компетентными органами в отношении рекомендуемого способа утилизации.
11. Маркировка безопасности продукции в первую очередь соответствует директивам ЕС по СГС. Паспорт безопасности предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
12. Чтобы сообщить о подозрениях на серьезные происшествия, связанные с данным устройством, обращайтесь в местное представительство компании Roche и в уполномоченные органы государства-участника или страны местонахождения пользователя.

Данный продукт содержит компоненты, классифицированные согласно регламенту (ЕС) № 1272/2008 следующим образом.

Табл. 1. Информация об опасности.

Опасность	Код	Заявление
Фактор опасности   	H225	Легковоспламеняющаяся жидкость и пары.
	H315	При попадании на кожу вызывает раздражение.
	H319	При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение.
	H336	Может вызывать сонливость или головокружение.
	H350	Может вызывать раковые заболевания.
	H373	Может повреждать органы в результате многократного или продолжительного воздействия.
	P201	Перед использованием пройти специальный инструктаж.
	P210	Беречь от тепла, горячих поверхностей, искр, открытого огня и других источников воспламенения. Курение при использовании запрещено.
	P260	Избегать вдыхания взвеси или паров.
	P280	Использовать перчатки/спецодежду/средства защиты глаз/лица/слуха.
	P308+ P313	ПРИ воздействии или подозрении на возможность воздействия обратиться за медицинской помощью.
	P370+ P378	При пожаре: тушить сухим песком, огнетушащим порошком или спиртоустойчивой пеной.

EUN208: данный продукт содержит йодат натрия. Может вызывать аллергические реакции.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Подготовка флакона с реагентом

Перед первым использованием вставку для флакона и соломинку нужно поместить во флакон с реагентом.

Удалите транспортировочный колпачок из флакона и поместите вставку и соломинку во флакон. После открытия флакона соломинка должна оставаться во флаконе.

Процедура окрашивания

1. Загрузите реагенты и предметные стекла в прибор.
2. Положите мягкий колпачок в отверстие держателя реагентов, если реагенты используются.
3. Выполните цикл окрашивания в соответствии с рекомендованным протоколом в Табл. 2 и инструкциями в руководстве пользователя.
4. По завершении цикла извлеките предметные стекла из прибора.
5. Если флакон с реагентом не используется, закройте его мягким колпачком.

Рекомендованный протокол

Параметры автоматизированных процедур доступны для просмотра, печати и редактирования в соответствии с инструкциями в руководстве пользователя прибора.

Процесс выполнения следующих процедур может быть гибко настроен в соответствии с потребностями пользователя. Данный продукт оптимизирован для использования в приборах BenchMark Special Stains, однако пользователь должен валидировать результаты, полученные с помощью данного продукта.

Табл. 2. Рекомендованный протокол окрашивания для набора Congo Red Staining Kit в приборе BenchMark Special Stains.

Процедура окрашивания	S Congo Red
Этап протокола	Метод
Депарафинизация	Выберите автоматическое удаление парафина.
Прогрев (дополнительно)	Параметр по умолчанию не выбран. Рекомендуется 75 °C в течение 4 минут.
Option 1 или Option 2	По умолчанию используется Option 1. Выберите Option 1 или Option 2: <ul style="list-style-type: none"> • При варианте Option 1 Congo Red Stain вносится перед Hematoxylin, ядра будут фиолетового цвета. • При варианте Option 2 Hematoxylin вносится перед Congo Red Stain, ядра будут синего цвета.
Вариант Option 1	
Оптимизация интенсивности окрашивания (C. Red Stain)	Вариант Option 1 по умолчанию — 37 °C в течение 24 минут. Выберите, чтобы включить регулировку интенсивности окрашивания.* Выберите температуру в диапазоне от 37 до 60 °C: <ul style="list-style-type: none"> • 37 °C — более светлое окрашивание амилоида; • 60 °C — более темное окрашивание амилоида. Выберите продолжительность инкубации от 20 до 32 минут: <ul style="list-style-type: none"> • 20 минуты — более светлое окрашивание амилоида; • 32 минут — более темное окрашивание амилоида.

Процедура окрашивания	S Congo Red
Этап протокола	Метод
Оптимизация интенсивности Hematoxylin (C. Red Hematoxylin)	Вариант Option 1 по умолчанию — 12 минут. Выберите, чтобы выполнить оптимизацию гематоксилина*: <ul style="list-style-type: none"> 4 минуты — более светлое ядерное окрашивание; 16 минут — более темное ядерное окрашивание.
Вариант Option 2	
Оптимизация интенсивности Hematoxylin (C. Red Hematoxylin)	Вариант Option 2 по умолчанию — 8 минут. Выберите, чтобы выполнить оптимизацию гематоксилина*: <ul style="list-style-type: none"> 4 минуты — более светлое ядерное окрашивание; 16 минут — более темное ядерное окрашивание.
Оптимизация интенсивности Congo Red (C. Red Stain)	Вариант Option 2 по умолчанию — 48 минут. Выберите, чтобы включить регулировку интенсивности окрашивания.* Выберите продолжительность инкубации от 32 до 48 минут: <ul style="list-style-type: none"> 32 минуты — более светлое окрашивание амилоида; 48 минут — более темное окрашивание амилоида.

* Чтобы настроить предпочтительные значения для окрашивания, увеличивайте температуру окрашивания и продолжительность инкубации по одному параметру за раз.

Рекомендуемая обработка после автоматического окрашивания

1. Ополаскивайте предметные стекла в трех сменах 100 % этанола, чтобы удалить остатки раствора, в течение 5–10 секунд каждое, осторожно встряхивая.
2. Выполните обезвоживание предметных стекол в трех сменах 100 % ксилола в течение 5–10 секунд каждое, осторожно встряхивая.
3. Накройте покровным стеклом, используя постоянную заливочную среду.
4. Совместим с протоколом автоматического накрывания системы VENTANA HE 600. Более подробные инструкции см. в руководстве пользователя системы VENTANA HE 600.

ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Примером материала положительного тканевого контроля может быть образец фиксированной в формалине и залитой парафином (FFPE) ткани человека, положительный на амилоид, например, от пациента с амилоидозом.¹ В качестве контрольной ткани следует использовать свежие образцы тканей, полученные при вскрытии, биопсии или в ходе хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать по точно такой же процедуре, что используется для тестируемых образцов. С помощью таких тканей следует осуществлять мониторинг всех этапов анализа от приготовления образцов тканей до окрашивания.

Использование срезов тканей, фиксированных или обработанных иначе, чем тестируемый образец, позволяет осуществлять контроль для всех реагентов и этапов методики, за исключением фиксации и обработки тканей. Клеточные структуры других тканевых элементов могут служить в качестве отрицательного контроля.

Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно предметное стекло с образцом исследуемой ткани. Это позволяет распознать случаи, когда реагенты нанесены на предметное стекло неправильно. Контрольная ткань может содержать как положительные, так и отрицательные элементы окрашивания и служить как в качестве положительного, так и отрицательного контроля.

Контрольная ткань должна тестироваться при каждом цикле.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля правильности работы с обработанными тканями и реагентами теста, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании образцов пациента.

Если не наблюдается положительного окрашивания положительных тканевых компонентов, результаты окрашивания тестируемых образцов следует считать недействительными. Если наблюдается положительное окрашивание отрицательных компонентов, результаты окрашивания исследуемых образцов пациента также следует считать недействительными.

В случае необъяснимых расхождений контрольных результатов следует немедленно обратиться к представителю региональной службы поддержки. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты для пациента являются недействительными. Необходимо указать причину, исправить ее и повторить исследование образцов пациента.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОКРАШИВАНИЯ / ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Congo Red Staining Kit протестирован для демонстрации амилоида.

- Амилоид (в светлом поле): от розового до оранжево-розового цвета
- Амилоид (в поляризованном свете): яблочно-зеленое двойное лучепреломление
- Ядра: фиолетового цвета с использованием варианта Option 1 протокола
- Ядра: синего цвета с использованием варианта Option 2 протокола
- Амилоид может проявляться в виде круглых или ленточных отложений, окрашенных розовым цветом, по всей ткани. Особенно часто амилоид обнаруживается в стенках кровеносных сосудов и базальных мембранах. Кератин, эластические и плотные коллагеновые волокна могут удерживать краситель Congo красный. Двойное лучепреломление является характерным свойством комплекса амилоидных фибрилл и Congo красного.^{7,8} Для однозначной идентификации амилоида при окрашивании Congo красным необходимо выявить амилоид от розового до оранжево-розового цвета в светлом поле и яблочно-зеленое двойное лучепреломление в поляризованном свете.

ОСОБЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

Для данного анализа использовались и прошли валидацию только предметные стекла с положительным зарядом.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Для данного реагента были проведены исследования специфичности, чувствительности и прецизионности окрашивания. Результаты приведены ниже.

Чувствительность и специфичность

Аналитическую чувствительность и специфичность оценивали на положительных по содержанию амилоида тканях (различные типы тканей) и здоровой коже. Оба варианта протокола (Option 1 и Option 2) были протестированы на всех тканях, перечисленных в Табл. 3. Все проверенные ткани (60/60) удовлетворяли критериям приемлемого окрашивания, как показано в Табл. 3.

Табл. 3. Чувствительность/специфичность Congo Red Staining Kit определяли путем окрашивания следующих здоровых и пораженных образцов фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) тканей.

Ткань	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/число анализов
Амилоид-положительные ткани (различные типы ткани*)	45 / 45
Нормальная кожа	15 / 15

* Протестированные ткани включают, помимо прочего, ткани щитовидной железы, предстательной железы, печени, желудка, толстой кишки, мягких тканей и легких.

Прецизионность

Прецизионность Congo Red Staining Kit была определена в нескольких циклах окрашивания, в течение нескольких дней, на нескольких приборах и с помощью нескольких партий реагентов на образцах различных амилоид-положительных тканей (предметные стекла с тканями щитовидной железы, предстательной железы, печени, желудка, толстой кишки, мягких тканей и легких) с использованием варианта Option 1 протокола. Было достигнуто соответствие всем критериям приемлемости. Исследования прецизионности Congo Red Staining Kit проводились в соответствии с данными Табл. 4.

Табл. 4. Исследования прецизионности при окрашивании предметных стекол с помощью набора Congo Red Staining Kit.

Тестируемые параметры	Количество условий	Число случаев, которые удовлетворяли критериям/Число анализов
Между циклами	3 цикла, тот же день	54 / 54
Между днями	5 дней	90 / 90
Между приборами	3 прибора	54 / 54
В пределах одного цикла	Тот же день, тот же прибор	54 / 54
Между партиями	3 партии	54 / 54

Была продемонстрирована незначительная разница в интенсивности окрашивания между предметными стеклами.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

- Толщина среза может оказывать влияние на качество и интенсивность окрашивания. Если результаты окрашивания неудовлетворительные, обратитесь за помощью к представителю региональной службы поддержки.
- Некротическая или автолизированная ткань может давать неспецифическое окрашивание.
- Если результаты положительного контроля отрицательные, возможно, ткани неправильно собирались, фиксировались или депарафинизировались. Соблюдайте методику забора, хранения и фиксации образцов.
- Если результаты положительного контроля отрицательные, проверьте правильность этикетки со штрихкодом на предметном стекле. Если этикетка со штрихкодом на предметном стекле правильная, проверьте другие положительные контроли из того же цикла, чтобы определить правильность окрашивания при выполнении контроля.
- Причиной избыточного фоновое окрашивания может служить неполное удаление парафина, которое приводит к возникновению артефактов или отсутствию окрашивания. Если с предметного стекла удален не весь парафин, при возможности, цикл окрашивания следует повторить с использованием варианта продленной депарафинизации.

- Если срезы ткани смываются с предметного стекла, проверьте предметные стекла и убедитесь, что они имеют положительный заряд.
- На более толстых срезах отложения амилоида выявляются более наглядно, в то время как на более тонких срезах может не быть яблочно-зеленого двойного лучепреломления.
- Интенсивность окрашивания уменьшается с возрастом срезов; свежесделанные срезы дают более интенсивную реакцию окрашивания.
- Важно тщательно провести обезвоживание предметных стекол и быстро изучить их. Как и при ручном окрашивании, при длительном воздействии спирта во время обезвоживания краситель Congo красный может быть смыт.
- Длительное нахождение предметных стекол внутри прибора после завершения цикла может повлиять на качество и интенсивность окрашивания. Если окрашивание оказывается неудовлетворительным, извлеките предметные стекла в конце цикла и переходите к обработке после автоматического окрашивания в приборе быстрее.
- Способы устранения проблем см. в разделе «Инструкция по применению» или руководстве пользователя прибора. Эту информацию также можно получить у представителя региональной службы поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Gilbertson JA. Amyloid. In: Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 2019;231-253.
- 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.
- Mollee P, Renaut P, Gottlieb D, et al. How to Diagnose Amyloidosis. Intern Med J. 2014;44(1):7-17.
- Gertz MA, Dispenzieri A. Systemic Amyloidosis Recognition, Prognosis, and Therapy: A Systematic Review. JAMA. 2020;324(1):79-89.
- Wheater PR, Burkitt HG. Basic Histopathology, 2nd edition. New York: Churchill Livingstone; 1991.
- Navarro A, Tolivia J, Valle E. Congo Red Method for Demonstrating Amyloid in Paraffin Sections. J Histotechnol. 1999;22(4):305-308.
- Fredenburgh JL, Grizzle WE. Special Stains: Their Chemical Mechanism. Chicago: ASCP Press; 1998.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI Web site. <http://www.clsi.org/>. Accessed November 3, 2011.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- 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.

ПРИМЕЧАНИЕ. В настоящем документе в дробных числах в качестве границы, отделяющей десятичные знаки от целого, всегда используется точка. Разделители для тысяч не используются.

Символы

Компания Ventana использует следующие символы и знаки в дополнение к указанным в стандарте ISO 15223-1 (определение символов для США см. на веб-сайте: elabdoc.roche.com/symbols):



Глобальный номер товара



Уникальный идентификатор устройства



Указывает на юридическое лицо, осуществляющее импорт медицинского изделия в страны Европейского союза.

ИСТОРИЯ РЕДАКЦИЙ

Ред.	Обновления
Н	Обновлены разделы «Предупреждения и меры предосторожности» и «Литература».

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche. Все остальные товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



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

